

Aus dem Zentrum für Klinische Chemie, Immunologie und
Humangenetik der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilung für Klinische Immunologie und Bluttransfusion

Untersuchungen über Häufigkeit und Spezifität
komplement-fixierender thrombozytärer HL-A-
spezifischer Antikörper bei polytransfundenen
Patienten und Patienten mit Transfusions-
zwischenfällen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hartwig Grieb
aus Griedel

Gießen 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545932_0058

Aus dem Zentrum für Klinische Chemie, Immunologie und
Humangenetik der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilung für Klinische Immunologie und Bluttransfusion

Untersuchungen über Häufigkeit und Spezifität
komplement-fixierender thrombozytärer HL-A-
spezifischer Antikörper bei polytransfundenen
Patienten und Patienten mit Transfusions-
zwischenfällen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hartwig Grieb
aus Griedel

Gießen 1973



Dekan: Prof.Dr.Hj.Staudinger

1.Berichterstatter: Prof.Dr.Ch.Mueller-Eckhardt

2.Berichterstatter: Prof.Dr.H.-J.Wellensiek

GLIEDERUNG

	<u>Seite</u>
A. EINLEITUNG	3
B. LITERATURÜBERSICHT	5
C. MATERIAL UND METHODEN	8
1. Die Seren und deren Aufbereitung	8
2. Die Herstellung der Testzellen	10
3. Die Suchreaktion	11
3.1 Prinzip und Technik	11
3.2 Die Komplementtitration	14
3.3 Die Herstellung der sensibil. Erythrozyten	16
4. Absorption und Elution	17
5. Die Auswertung	19
D. ERGEBNISSE	21
1. Die Kasuistiken der polytransfundierten Patienten	21
2. Die Kasuistiken der Patienten mit Transfusionszwischenfällen	25
3. Serologie der polytransfundierten Patienten	27
4. Serologie der Patienten mit Transfusionszwischenfällen	37
E. KRITISCHE ANALYSE METHODISCHER PARAMETER	41
1. Auswahl und Sammeln des Materials	41
2. Puffer und pH-Wert	42

	<u>Seite</u>
3. Inkubationszeit	43
4. Antiseren	43
5. Plättchensuspensionen	45
6. Komplement	46
7. Sensibilisierte Hammelblutkörperchen	47
8. Absorption und Elution	48
9. Vergleich der Methoden	50
 F. <u>ANALYSE DER ERGEBNISSE</u>	 52
1. Spezifität und Häufigkeit der Antikörper	52
2. Kreuzreagierende Antikörper	55
3. Klinische Bedeutung	60
3.1 Transplantation und Plättchen	60
3.2 Bluttransfusion und Transfusionsreaktionen	61
3.3 Blut- und Plättchentransfusion	66
 G. ZUSAMMENFASSUNG	 69
 H. ANHANG VON TABELLEN UND ABBILDUNGEN	 71
 I. LITERATURVERZEICHNIS	 106
 K. LEBENSLAUF	 116

A. EINLEITUNG

Mit der Entdeckung der Blutgruppenantigene durch LANDSTEINER (1901) war die Voraussetzung für gefahrlose und erfolgreiche Bluttransfusionen gegeben. Hämolytische Transfusionszwischenfälle als Folge einer Übertragung gruppenfremden Blutes sollten in unserer Zeit eine Seltenheit sein.

Jedoch haben sich die Indikationen zur Bluttransfusion immer mehr erweitert, und moderne organisatorische Voraussetzungen verleiten allzu leicht zu einer kritiklosen Anwendung. Die Gefahren und Gegenindikationen dieser Therapieform sind so zum Hauptproblem des heutigen Transfusionswesens geworden.

Bei jeder Transfusion von Blut wird der Empfängerorganismus mit einer Vielzahl von fremden Antigenen konfrontiert. Es können sich nicht nur Erythrozytenantikörper bilden, sondern auch Antikörper gegen Leukozyten, Thrombozyten und Plasmaeiweißkörper. Die letztere Gruppe verursacht nicht-hämolytische Transfusionszwischenfälle.

Die Immunisierung durch Transfusionen und die erhebliche Frequenz leukozytärer Antikörper bei polytransfunden Patienten wurde von ENGEL-FRIET (20) und SHULMAN (46) beschrieben. Die klinische Relevanz derartiger Antikörper bei Transfusionszwischenfällen ist verschiedentlich bestätigt worden (55).

Es liegt nahe, sich mit der Gruppe von Patienten zu befassen, die mehrere Bluttransfusionen erhalten hat und mit Patienten, die aufgrund von Bluttransfusionen klinische Reaktionen gezeigt haben.

Es ist Aufgabe dieser Arbeit zu untersuchen, wie häufig komplement-fixierende HL-A-spezifische thrombozytäre Antikörper im Serum polytransfundierter Patienten und bei Patienten, die nach Transfusionen Reaktionen irgendwelcher Art gezeigt haben, vorkommen. Weiterhin wird versucht eine Häufigkeit bestimmter Antikörperspezifitäten, wie sie für Leukozytenantikörper beschrieben ist, auch für thrombozytäre Antikörper aufzuzeigen.

Untersucht wird auch die Abhängigkeit einer Immunisierung durch Menge und Art von Bluttransfusionen.

Alle Untersuchungen über Vorkommen und Häufigkeit leukozytärer und thrombozytärer Antikörper bei Transfusionsreaktionen stammen jedoch aus einer Zeit, in der die HL-A-Antigene noch nicht definiert waren. Angaben über Antikörperspezifitäten fehlen deshalb meist (1, 55). Ziel dieser Arbeit ist es daher auch, die Spezifität der bei Transfusionszwischenfällen nachweisbaren HL-A-spezifischen Antikörper zu ermitteln.

Da unser Serenmaterial ebenfalls auf Leukozytenantikörper mit Hilfe der Lymphozytotoxizitätsmethode nach NIH und KISSMEYER-NIELSEN (35) untersucht wurde konnten beide Methoden miteinander verglichen und Empfindlichkeitsunterschiede sowie Brauchbarkeit diskutiert werden.

B. LITERATURÜBERSICHT

Als immunologische Voraussetzung für eine Transplantation menschlicher Organe zwischen verwandten, wahrscheinlich aber auch zwischen nicht verwandten Spender-Empfänger-Paaren wird heute die Übereinstimmung im ABO- und HL-A-System angesehen (29, 43, 54).

Transplantationsantigene kann man definieren als Antigene auf Zellen und in Geweben, die nach einer Transplantation eine Immunantwort im Empfänger induzieren, deren Ergebnis die Transplantatabstoßung ist. Diese Immunantwort steht in Abhängigkeit von der genetischen Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger, welche eine mehr oder weniger große Histokompatibilität bedingt.

So kann man Transplantationsantigene auch als Histokompatibilitätsantigene bezeichnen. Das sogenannte HL-A-System gehört neben dem ABO-System zu den wichtigsten Histokompatibilitätssystemen.

Da die Bluttransfusion eine Allotransplantation von Blutzellen auf einen in der Regel unverwandten Empfänger ist, ist eine Antikörperbildung gegen Leukozyten und Blutplättchen als immunologische Antwort auf fremde Isoantigene im transfundierten Blut verständlich. Die Mehrzahl dieser Antikörper ist gegen Antigene des HL-A-Systems gerichtet.

DAUSSET (18) fand 1954 als erster Leukoagglutinierende Antikörper bei Patienten, die häufig Bluttransfusionen erhalten hatten. Er erkannte, daß Leukozytenantikörper nicht-hämolytische Transfusionsreaktionen bedingen können.

1958 zeigten PAYNE und ROLFS (36) sowie VAN ROOD (40) unabhängig voneinander, daß Isoantikörper gegen Leukozyten auch während einer Schwangerschaft gebildet werden können. Man fand, daß solche Antikörper gegen Leukozytenantigene des Vaters gerichtet waren und vermutete, daß sie von der Mutter als eine Antwort auf die fremden foetalen Antigene gebildet worden waren. Auch hier wurde die Beteiligung des HL-A-Systems nachgewiesen.

Neben dieser foeto-maternalen Immunisierung ist eine Bildung von HL-A-spezifischen Leukozytenantikörpern auch nach experimentellen und klinischen Transplantationen nachgewiesen worden (33, 57).

Wir wissen heute, daß Leukozyten und Plättchen Antigene tragen, die man auch auf Erythrozyten nachweisen kann, nämlich die des ABO-Systems und wahrscheinlich auch die des MN- und P-Systems. Zusätzlich findet man Antigene auf Leukozyten und Plättchen, welche bei Erythrozyten nicht vorhanden sind. Die meisten dieser Antigene rechnet man einem einzelnen Antigenesystem zu, welches 1967 (Torino Workshop) offiziell als HL-A-System ("HL-A" für "Human Leucocyte, Locus A") bezeichnet wurde.

Die HL-A-Antigene sind festgelegt durch Gene auf einem noch unbekannten Autosomenpaar. Diese Gene besetzen einen Abschnitt auf einem Chromosomenpaar, der HL-A-Region genannt wird. Diese komplexe Region ist zu unterteilen in schmalere Abschnitte, "Loci" genannt. Zwei HL-A-Loci sind zur Zeit ausreichend definiert: der LA-Locus (oder Erster Locus) und der Vierer-Locus (oder Zweiter Locus).

Zum LA-Locus gehören folgende Antigene:

HL-A 1, 2, 3, 9, 10, 11 und W28; der Vierer-Locus umfaßt die Antigene: HL-A 5, 7, 8, 12, 13 sowie W5, W10, W14, W15, W17, W18, W19, W21, W22 und W 27.

Alle Antigene mit einer HL-A-Nummer sind durch das WHO Nomenclature Committee als gut definierte Antigene offiziell anerkannt, solche mit W-Nummern gekennzeichnete gelten als nicht vollständig bewiesen.

Die Forschung über das HL-A-System beschrieb anfangs hauptsächlich Leukozytenantigene (11, 16). Erst SVEJGAARD (53) beschäftigte sich ausführlicher mit HL-A-spezifischen Thrombozytenantigenen. Er behauptete, daß Thrombozyten Träger wahrscheinlich aller HL-A-Antigene seien.

Als Nachweismethode hat sich die Komplementbindungsreaktion (KBR) mit Plättchen als sehr brauchbar erwiesen. Sie wurde 1951 von ACKROYD in die Thrombozytenimmunologie eingeführt.

1960 zeigte VAN DE WIEL die Brauchbarkeit der KBR für die Aufdeckung menschlicher Plättchenisoantikörper. Gleichzeitig führte SHULMAN (46) eine quantitative KBR zur Untersuchung von Plättchenantikörpern und -antigenen ein.

Diese quantitative Methode wurde 1964 von ASTER (4) zu einer einfacheren qualitativen Methode umgeändert. Weitere Techniken wurden beschrieben von VAN DER WEERDT (60), SVEJGAARD (53), GABB und BODMER (22), SMITH und WALFORD (48), COLOMBANI (14) und D'AMARO (16, 17).

SHULMAN (45) beschrieb als erster einen komplementfixierenden HL-A-spezifischen thrombozytären Antikörper (Anti-PIlyGr³⁴) bzw. (Anti-HL-A 2). Inzwischen wurden fast alle heute bekannten HL-A-Antigene mit Hilfe der KBR - Technik definiert (15).

1970 wurde auf dem Dritten Internationalen Kongress der Transplantation Society eine standartisierte Mikromethode für die Plättchen-KBR angenommen. Die von uns durchgeführte Mikro-Komplement-Bindungs-Reaktion bezieht sich im Wesentlichen auf die Vorschläge von D'AMARO und COLOMBANI. Siehe dazu Tabelle XXVII.

C. MATERIAL UND METHODEN

1. Die Seren und deren Aufbereitung

Als polytransfundierte galt jeder Patient, der an mindestens drei verschiedenen Tagen Bluttransfusionen erhalten hatte. Von solchen Patienten wurde von dem Kreuzungsblut eine Serumprobe in ein gesondertes Röhrchen abgefüllt.

Transfusionszwischenfälle wurden über die Rücksendung des Serologischen Begleitzettels, welcher jeder gekreuzten Konserve anhängt, durch den transfundierenden Arzt gemeldet. Auf dem Begleitzettel wurde vermerkt, welche klinischen Erscheinungen der Patient gezeigt hatte und nach welcher Zeit vom Transfusionsbeginn an diese aufgetreten waren.

Wurde ein Transfusionszwischenfall registriert, so wurde die Kreuzung der betreffenden Blutkonserven wiederholt und hierzu neues Kreuzungsblut angefordert. Wir untersuchten beide Blutproben, die vor und nach der Transfusion abgenommen worden waren. Das Serum der Patienten mit Transfusionsreaktionen wurde zusätzlich auf erythrozytäre Iso- und Autoantikörper untersucht.

Zur Vorbereitung der Untersuchung auf thrombozytäre und leukozytäre HL-A-Antikörper wurden die Serumproben mit einem Zusatz von 1/100 Volumen 1 %igem Natriumazid versehen und 30 Minuten im Wasserbad bei 56 Grad C. erhitzt. Nach dieser Hitzeinaktivierung des Komplements wurden die Seren fünf Minuten bei $23000 \times g$ zentrifugiert. Darauf Einfrieren der Seren bei -20 Grad C.

Positive Seren in der Suchreaktion

Wurde in zwei unabhängigen Untersuchungen ein identisches positives Versuchsergebnis erzielt, wurden dem betreffenden Patienten 100 - 200 ml Blut in eine evakuierte Blutentnahmeflasche abgenommen. Nach Gewinnung des Serums wurden 1/100 Volumen 1 %iges Natriumazid zugesetzt und 15 Minuten bei $20.000 \times g$ zentrifugiert. Darauf Einfrieren des Serums bei - 65 Grad C.

Verwendung der Seren

Für die Suchreaktion wurde die entsprechende Menge des eingefrorenen Serums bei Zimmertemperatur aufgetaut und mit der gleichen Menge Veronalpuffer verdünnt. Für Absorptionsversuche wurde unverdünntes Serum aus den größeren eingefrorenen Mengen verwendet. Das Serum wurde 30 Minuten bei 56 Grad C. im Wasserbad inaktiviert. Kurz vor Verwendung der Seren in den Versuchen wurde fünf Minuten bei $23.000 \times g$ zentrifugiert.

Keine Serumprobe wurde mehr als dreimal aufgetaut oder länger als 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen.

Material

1 %iges Natriumazid in phys. Kochsalzlösung

Veronalpuffer p_H 7.4

1. Vorratslösung, steril

NaCl	85.00 g
5.5 Diäthylbarbitursäure	5.75 g
Natriumsalz der 5.5. Diäthylbarbitursäure	3.75 g

1 M MgCl_2	5.00 ml
1 M CaCl_2	1.50 ml

entionisiertes Wasser ad 2000.00 ml

II. Gebrauchslösung, steril

100 ml der Vorratslösung werden mit
400 ml sterilem, entionisiertem Wasser
versetzt und im Kühlschrank bei +4 Grad
C aufbewahrt.

2. Die Herstellung der Testzellen

Aus einem Reservoir von 100 Testspendern, die mit der Mikro-Lymphozytotoxizitätsmethode HL-A-typisiert worden waren, wurden für die Herstellung eines Testzellpanels die betreffende Anzahl Spender mit gewünschtem Antigenmuster ausgewählt.

- a) 8 - 9 ml Spenderblut wurden in einem Röhrchen mit 1 ml 5 %igem EDTA abgenommen. Von jedem Röhrchen konnten 1 - 2 ml Plättchensuspension hergestellt werden.
- b) Zentrifugation 30 Minuten bei 100 xg und Abpipettieren des erythrozytenfreien, trüben Überstandes.
- c) Zentrifugation des Überstandes 15 Minuten bei 1600 xg und dreimaliges Waschen des Sedimentes (Plättchen, Leukozyten und wenige Erythrozyten) mit phys. Kochsalzlösung. Zentrifugation nach jedem Waschen 10 Minuten bei 1400 xg.
- d) Nach dem letzten Waschen wurde das Sediment in phys. Kochsalzlösung resuspendiert und fünf Minuten bei 180 xg zentrifugiert; das Sediment wurde verworfen, wenn es sichtbar viele Erythrozyten enthielt.

- e) Zentrifugation 10 Minuten bei $1400 \times g$ und Resuspension des Sedimentes mit 2 ml 0.1 %igem Natriumazid.
- f) 24 Stunden später photometrische Einstellung der Plättchenkonzentration auf $300.000/\text{mm}^3$.
- g) Aufbewahrung der Plättchensuspensionen bei $+ 4$ Grad C.

Die Einstellung der Plättchenkonzentration nahmen wir photometrisch vor. Es ist bekannt, daß es eine annähernd lineare Beziehung zwischen der Anzahl von Plättchen in einer Suspension und ihrer optischen Dichte gibt (24). Unter Verwendung einer Eichkurve, in der die Plättchenzahl gegen deren optische Dichte aufgetragen war, konnten wir anhand nur einer Messung die gewünschte Suspension herstellen. Siehe dazu Abbildung 1.

Material

0.1 %iges Natriumazid in phys. Kochsalzlösung "EDTA 5 %ig"

3. Die Suchreaktion

3.1 Prinzip und Technik

Der Nachweis von Antikörpern wird hier durchgeführt mit einer Reaktion, in welcher der Antikörper mit dem korrespondierenden Antigen unter Komplementverbrauch eine spezifische Bindung eingeht. Diese Antigen-Antikörperreaktion wird durch ein hämolytisches System sichtbar gemacht. Ein positives Ergebnis im Indikatorsystem, die Hämolyse, zeigt, daß der im Hauptversuch gesuchte Antikörper nicht vorhanden ist: Die Komplementbindungsreaktion (KBR) ist negativ.

Wir führten die KBR als Mikromethode (MKBR) durch, um eine Einsparung der Antiserummengen zu erreichen. Weitere Gründe werden später diskutiert.

Um fünf Seren mit 19 typisierten Testplättchen zu untersuchen, wurden zwei Falcon Testplatten verwandt. Die Testplatten wurden vor Versuchsbeginn mit Mineraloel überschichtet, um eine Austrocknung der Versuchsansätze zu verhindern. Die einzelnen Reagentien wurden mit der Hamilton Mikrospritze auf den Boden der Reaktionslöcher pipettiert.

Kontrollansätze:

- I. Plättchenkontrolle
- II. Serumkontrolle
- III. Pufferkontrolle

In folgender Reihenfolge wurde gearbeitet:

- a) Veronalpuffer Jeweils 4 μ l in jedes Reaktionsloch.
Die Kontrollreihen werden mit jeweils 6 μ l befüllt.
- b) Plättchensuspension 19 verschiedene Testplättchen werden pipettiert. Jeweilige Menge 2 μ l.
- c) Serumverdünnung Fünf zu untersuchende Seren werden mit jeweils 2 μ l pipettiert.
- d) Komplementverdünnung In sämtliche Reaktionslöcher werden jeweils 2 μ l pipettiert.
- e) Inkubation 120 Minuten bei 37 Grad C.
- f) Pipettieren von jeweils 2 μ l sensibil. Hammelblutkörperchen in sämtliche Reaktionslöcher.

- g) Inkubation 30 Minuten bei 37 Grad C.
- h) Zentrifugation der Testplatten drei Minuten bei ca. 600 x g.
- i) Makroskopische Beurteilung

Die Versuchsanordnung ist in Tabelle I aufgeführt.

Material

Micro Culture Tissue Plates, Falcon Plastics No: 3034
Oxnard, USA

Mineraloel Shell Ondina 33

Zentrifuge mit Spezialeinsätzen für Falcon Test Trays

Zellpanel aus 19 verschiedenen Plättchensuspensionen
(Zellkonzentration 300.000/mm³), suspendiert in phys.

Kochsalzlösung mit 0.1 %igem Natriumazid.

Serumverdünnung (1:2 in Veronal-Puffer), inaktiviert

Komplementverdünnung (1:12 bis 1:14 in Veronalpuffer)

Sensibilisierte Hammelerythrozyten (Zellkonzentration ca.
280.000/mm³), suspendiert in phys. Kochsalzlösung.

Die Makroskopische Beurteilung

Wir teilten die Hämolyse in Stufen von "1" bis "5" ein.

"1" entsprach maximaler Hämolyse = MKBR negativ

"5" entsprach maximaler Hemmung der Hämolyse = MKBR positiv. Die Stärke der positiven Reaktionen wurde im Vergleich zur Serumkontrolle bewertet.

Positive Testergebnisse

Ein positives Testergebnis wurde nur dann angenommen, wenn in zwei unabhängigen Untersuchungen ein identisches Versuchsergebnis erzielt wurde. Die Beurteilung wurde von zwei voneinander unabhängigen Personen vorgenommen. Nur diejenigen Antiseren, die Reaktionsstärken von mindestens "2+" aufwiesen, wurden weiter untersucht. In einem dritten und eventuell vierten Versuch wurden die positiven Seren gegen weitere 2o - 3o verschiedene Testzellen angesetzt. Konnten größere Mengen des positiven Serums vom Patienten gewonnen werden, wurde dieses ebenfalls gegen 4o - 5o Zellen untersucht.

Zusammenstellung der Testzellen für die Suchreaktion

Für die Suchreaktion verwandten wir Thrombozyten von 19 Testspendern, die nach vorheriger Austestung mit der Mikrolymphozytotoxizitätsmethode nach KISSMEYER-NIELSEN (35) typisiert worden waren und folgende Antigene enthielten:

LA-Locus: HL-A 1, 2, 3, 9, 1o, 11, W 28.

Vierer-Locus: HL-A 5, 7, 8, 12, 13, W5, W1o, W14, W15,
W17, W18, W19, W21, W22 und W27.

Die Testzellen wurden so zusammengestellt, daß von einem Teil der Zellen nicht alle Antigene identifiziert waren, um möglicherweise auch Antikörper gegen nicht definierte Antigene zu erfassen.

3.2 Die Komplement-Titration

Ein Antikörpernachweis in der MKBR ist nur dann möglich, wenn bei positiver Ag-Ak-Reaktion sämtliches hinzugegebenes Komplement verbraucht wird und bei Zugabe von sensibilisierten Hammelblutkörperchen keine Hämolyse einsetzt.

Die optimale Komplementmenge wird durch die Komplementtitration (C'-Titration) ermittelt.

Ausführung in Doppelansätzen

Es wurden in die Testansätze pipettiert:

- a) 2 ul inaktives AB-Serum (1:2)
- b) 2 ul Natriumazid 0.1 %ig
- c) 6 ul aktives Serum (C'x) in Verdünnungen von 1:20 bis 1:110
- d) Inkubation der Testplatten 120 Minuten bei 37 Grad C.
- e) 2 ul sensibilisierte Hammelblutkörperchen
- f) Inkubation der Testplatten 30 Minuten bei 37 Grad C.
- g) Zentrifugation der Testplatten drei Minuten bei ca. 600 xg.
- h) Makroskopische Beurteilung

Ablese und Berechnung der optimalen C'-Konzentration.

Wir teilten die Hämolyse in Stufen von "1" bis "5" ein, entsprechend dem Auswertungsverfahren bei der MKBR-Suchreaktion. Eine 90 %ige Hämolyse (H 90) entsprach einem Beurteilungswert von "2+".

Die brauchbare C'-Verdünnung wurde mit $2 \times H\ 90$ angenommen. Wir verwandten nur solches AB-Serum, bei dem H 90 zwischen den Titrationsstufen 1:60 bis 1:80 lag. Aufbewahrung des aktiven AB-Serums bei -20 Grad C.

Material

Natriumazid 0.1 %ig in phys. Kochsalzlösung

AB-Serum (inaktiv) 1:2 mit Veronalpuffer verdünnt

Frisches AB-Serum (aktiv) 1:20 bis 1:110 mit Veronalpuffer verdünnt

Sensibilisierte Hammelblutkörperchen (2.5 %ig)

3.3 Die Herstellung der sensibilisierten Hammelblutkörperchen

Ausführung

- a) Drei maliges Waschen der Hammelblutkörperchen (HBK).
Zentrifugation nach jedem Waschen fünf Minuten bei
1.500 x g.
- b) Ansatz I : 0.6 ml gewaschene HBK
+ 9.4 ml phys. Kochsalzlösung
- c) Photometrische Messung der Dichte der Suspension von
Ansatz I nach Hämolyse bei Hg 546nm.
0.1 ml HBK-Suspension (Ansatz I)
+ 2.9 ml Aqua dest.
- d) Berechnung der HBK-Konzentration in Ansatz I und Verdünnung der Suspension auf 5 % mit phys. Kochsalzlösung.

$$\frac{\text{gefundene Extinktion}}{\text{Soll-Extinktion}} = \frac{a}{300} = f$$

$$\text{Menge der Suspension Ansatz I} \times f = b$$

$$b - \text{Menge der Suspension Ansatz I} = \text{Fehlende Menge an Verdünnungsmittel}$$

Man erhielt so eine 5 %ige Hammelblutkörperchen-Suspension (Ansatz II).

- e) Sensibilisieren der Hammelblutkörperchen.

$$\begin{aligned} \text{Ansatz III : } & 10 \text{ ml Ambozeptor (1:1000)} \\ & + 10 \text{ ml HBK-Suspension (Ansatz II)} \end{aligned}$$

Ansatz III wird 30 Minuten bei 37 Grad C und danach 30 Minuten bei 4 Grad C. inkubiert.

Man erhielt so eine 2,5 %ige Suspension sensibilisierter Hammelblutkörperchen (ca. $560.000/\text{mm}^3$). Diese Suspension ist zwei Tage bei + 4 Grad C. haltbar.

- f) Kurz vor Verwendung im Versuch wurde 1:2 mit Veronalpuffer verdünnt (Zellkonzentration ca. $280.000/\text{mm}^3$).

Material

Hammelblut - Konserviert mit ACD-Stabilisator
Ambozeptor 1:1000

4. Absorption und Elution HL-A-spezifischer Antikörper

Wir verwandten für eine Absorption Plättchen aus sechs ml Plättchensuspension. Es wurden bei jedem Absorptionsschritt jeweils ein bis drei ml Antiserum, je nach Antikörpertiter verwandt. Die Antiseren wurden durch Inkubation 30 Minuten bei 56 Grad C. inaktiviert.

- a) Zentrifugation der Plättchensuspension 20 Minuten bei $1.600 \times g$.
- b) Der Plättchenbodensatz wurde mit der gewählten Menge Antiserum resuspendiert und eine Stunde im Wasserbad bei 37 Grad C. unter ständigem Schütteln inkubiert.
- c) Zentrifugation der Suspension 15 Minuten bei $1.500 \times g$ und Abnahme des Überstandes (absorbiertes Antiserum).
- d) Erneute Zugabe von Antiserum zum Plättchenbodensatz, Resuspension und Inkubationsbehandlung wie bei b).
- e) Zentrifugation der Suspension 15 Minuten bei $1.500 \times g$ und Verwerfen des Überstandes.

- f) Je nach Antikörpertiter Durchführung einer dritten Absorption.
- g) Nach Abschluß der Absorption Resuspension des Plättchenbodensatzes in gepufferter phys. Kochsalzlösung und Waschen der Suspension. Zentrifugation nach dem Waschen 15 Minuten bei $1500 \times g$.

Die Elution des Antikörpers von den Antikörper-beladenen Plättchen wurde durch Ansäuern mit 0.1 N HCl bis $p_H 3.0 - 2.8$ durchgeführt.

- a) Zugabe von ungepufferter phys. Kochsalzlösung zum gewaschenen Plättchenbodensatz und Resuspension zur p_H -Messung.
- b) Ansäuern der Suspension mit HCl -Lösung und Einstellen des p_H auf 3.0 bis 2.8 mit dem p_H -Meter.
- c) 10 Minuten Inkubation bei Zimmertemperatur.
- d) Zentrifugation 15 Minuten bei $1500 \times g$ und Abfüllen des klaren Überstandes (Eluat).
- e) Einstellen des Überstandes (Eluat) auf $p_H 7.00$ bis 7.2 mit NaOH -Lösung. Ergänzen ad $500 \mu\text{l}$ mit gepufferter phys. Kochsalzlösung.
- f) Zentrifugation fünf Minuten bei $23.000 \times g$.

Aufbewahrung und Gebrauch der Eluate

Aufteilen des gewonnenen Eluates in $50 \mu\text{l}$ -Portionen und Einfrieren bei -20°C . Vor Gebrauch des Eluates Zentrifugation fünf Minuten bei $23.000 \times g$. Keine Eluatportion wurde mehr als einmal aufgetaut.

Material

Plättchensuspensionen (Zellkonzentration $500.000/\text{mm}^3$)

suspendiert in phys. Kochsalzlösung mit 0.1 % Natriumazid.

0.1 N HCl-Lösung; 0.1 und 0.002 N NaOH-Lösung;

Gepufferte phys. Kochsalzlösung (0.15 M NaCl und 0.0013 M Na_2PO_4 ; p_H 7.2 nach Sørensen)

p_H -Meter und Eichlösungen

5. Die Auswertung der Ergebnisse

Wir versuchten alle in der Suchreaktion erkannten Antikörperspezifitäten mit Hilfe der Absorption und Elution unter Verwendung geeigneter Zellen aufzuschlüsseln und zu beweisen. Eventuell vorliegende, in der Suchreaktion nicht erkannte kreuzreagierende Antikörper wurden durch die Elutionsversuche ausgeschlossen oder bestätigt.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem "Vier-Felder-Test".

Wir verglichen die positiven Reaktionen des Antiserums bzw. Eluates mit den Antigenen im Testpanel. Es wurden alle negativen und alle positiven Reaktionen ausgezählt. Als "falsch positive" Ergebnisse wurden alle Reaktionen bezeichnet, die vom vermuteten Antikörpermuster deutlich abwichen. Als "falsch negative" Ergebnisse galten alle fehlenden Reaktionen mit den betrachteten korrespondierenden Antigenen. Lag ein Antiserum mit bi- oder polyspezifischen Antikörpern vor, versuchten wir, die einzelnen Spezifitäten getrennt zu betrachten.

N = Zahl der im Versuch verwandten Zellen

a = Positive Reaktionen

b = Negative Reaktionen

c = "Falsch negative" Reaktionen

d = "Falsch positive" Reaktionen

χ^2 wurde berechnet nach der Formel:

$$\chi^2 = \frac{(ad-bc)^2 N}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit erfolgte aus

χ^2 . p ergab sich aus $p = 0.001 \times \alpha$.

Die Addition positiver Panelzellen

Hier wurde versucht, eine Aussage über die Stärke einer Antikörperspezifität in einem Antikörpermisch zu machen, bezogen auf die Häufigkeit der Reaktionen mit den korrespondierenden Antigenen. Ein Beispiel hierfür ist Fall PT 2, dargestellt in Abbildung 3.

In Tabelle XII (Fall PT 10) nahmen wir ebenfalls eine Addition positiver Panelzellen bei sieben vermuteten Antikörpern vor.

Nach Auszählung der häufigsten Reaktionen bei bestimmten Antigenen ergab sich eine Staffelung der sieben Antikörperspezifitäten nach der Häufigkeit ihres Auftretens.

Diskordanz und Konkordanz

Bei den Ergebnissen der Fälle PT 11 bis PT 16, die nur in der Suchreaktion getestet werden konnten, wurden alle positiven und alle negativen Reaktionen ausgezählt. "Falsch negative" oder "falsch positive" Reaktionen gingen dann unter Berücksichtigung der Anzahl aller Testzellen (N) in die Berechnung der Konkordanz und Diskordanz ein.

D. ERGEBNISSE

1. Die Kasuistiken der polytransfundierten Patienten (PT)

Eine Übersicht findet sich in Tabelle XIX und Tabelle XX.

Fall PT 1 = TZ 7

W. A., männlich, 59 Jahre, M. Osler mit intrapulmonal gelegenen arteriovenösen Aneurysmen.

Seit der Kindheit häufig Nasenbluten. Stationäre Aufnahme im September 1968 wegen starker Blutungen aus der Nase und erheblicher Anämie. Es wurden bis zum Dezember 1969 25 Vollblutkonserven transfundiert, vom Januar bis April 1970, 12 mal Erythrozytenkonzentrat verabreicht. Im Mai 1970 wurde eine Östrogentherapie begonnen. Ende 1970 wurden erstmals Thrombozytenantikörper nachgewiesen, worauf nur noch gewaschene Erythrozyten transfundiert wurden. April 1970 Therapie mit Cortison. Im Juni 1970 wurde eine Transfusionsreaktion nach Gabe von drei Erythrozytenkonzentraten beobachtet; später noch weitere Reaktionen.

Die genaue Transfusionsanamnese ist aus Tabelle II und Abbildung 2 zu ersehen.

Fall PT 2 = TZ 8

E. L., weiblich, 76 Jahre, Osteomyelofibrose

Drei Schwangerschaften (Beginn der letzten im August 1927). Feststellung einer Anämie vor zwei Jahren und stationäre Aufnahme zur Abklärung. Regelmäßige monatliche Vollbluttransfusionen. Im Laufe des Jahres 1970 mehrere febrile Transfusionsreaktionen nach Vollblutgaben. Feststellung eines thrombozytären HL-A-Antikörpers im August 1970. Siehe dazu Abbildung 3.

Fall PT 3

J. G., weiblich, 51 Jahre, Hämolytische Anämie

Mit elf Jahren Chorea minor und Rheumatismus. Zwei Schwangerschaften (Beginn der letzten im Oktober 1949). Seit 1962 in ständiger klinischer Beobachtung mit wiederholten stationären Aufenthalten wegen kardialer Dekompensation. Mitralklappenersatz im Oktober 1970. Transfusion von vier Vollblutkonserven und einmal gewaschenen Erythrozyten. Dezember 1970 Sternumrevision. Transfusion von zehn Konserven Vollblut und zwei Erythrozytenkonzentraten. April 1971 erneute Sternumrevision: Zwei Vollblutgaben, einmal gewaschene Erythrozyten und zwei Erythrozytenkonzentrate. Nachweis von thrombozytären HL-A-Antikörpern.

Fall PT 4

C. L., weiblich, 34 Jahre, Ösophagusvarizenblutungen bei Leberzirrhose;

Hepatitis 1965; Cholezystektomie 1968. Im September 1969 erstmals Erbrechen von Blut. Im Juli 1970 erstmalig Bluttransfusionen. Dezember 1970 stationäre Aufnahme wegen akuter Ösophagusvarizenblutung. Transfusion von fünf Konserven Erythrozytenkonzentrat. Anlage eines Boremaringes zur Dissektionsligatur.

Fall PT 5 = TZ 10

M. E., weiblich, 68 Jahre, Magenkarzinom; Milzvenenthrombose Vier Schwangerschaften (Beginn der letzten im Februar 1936). Seit etwa drei Monaten Teerstühle und Schmerzen im Oberbauch. Gewichtsverlust seit einem Jahr. Nach einer Bluttransfusion Schüttelfrost. Februar 1971 stationär wegen Blutung aus dem Magen-Darm-Trakt. Sieben Bluttransfusionen. Splenektomie. Postoperativ zwei Bluttransfusionen.

Fall PT 6

N. R., männlich, 70 Jahre, Adenokarzinom der Prostata

Im Juni 1969 Elektroresektion der Prostata wegen Harnverhaltung.
Im Dezember 1970 stationär wegen Blasen tamponade und präurämi-
schen Zustandes. Nachweis von thrombozytären HL-A-Antikörpern
im Januar 1971.

Postoperativ im Juni 1969 erstmals drei Vollblutgaben. Vom Dezem-
ber 1970 bis Ende Januar 1971 Transfusion von vier Konserven Voll-
blut und fünfmal gewaschenen Erythrozyten.

Fall PT 7 = TZ 11

O. R., männlich, 68 Jahre, Immunhämolytische Anämie

Vor drei Jahren erstmals Auftreten einer hämorrhagischen Diathese.
Nach Vollblutgabe Transfusionsreaktion mit hohem Fieber und Hämolyse.
Serologisch wurden folgende Befunde erhoben: Isoantikörper gegen
Erythrozyten (Anti-CD, Anti-Kidda), gegen Leukozyten und Thrombo-
zyten, außerdem freie und zellfixierte Autoantikörper gegen Erythro-
zyten.

Transfusionsanamnese:

Vorher nie Bluttransfusionen erhalten!

Juli 1969	Eine Vollblutkonserve
August 1970	Eine Vollblutkonserve - Transfusionsreaktion mit Fieber und Hämolyse.

Vom 20. 8. 1970 bis 12. 9. 1970:

Neun Vollblutkonserven - nur noch Hämolyse.

Vom 19. 9. bis 26. 9. 1970:

Sechs Erythrozytenkonzentrate (Kidd-negativ)

Vom 11. 3. 1971 bis 26. 3. 1971:

13 Erythrozytenkonzentrate (Kidd-negativ)

Fall PT 8

A. E., weiblich, 51 Jahre, Magenblutungen unter Cortisontherapie

Zwei Schwangerschaften (Beginn der letzten im Februar 1946). Eine primär chronische Polyarthrits wurde mit Cortison therapiert. Im Januar 1971 stationär wegen Teerstühlen. Röntgenologisch wurde ein Ulcus ad pyloricum gesichert. Gabe von drei Konserven Vollblut. Im März 1971 Transfusion von zwei Vollblutkonserven. Angeblich Transfusion von 14 Konserven Vollblut vor 1971.

Fall PT 9

G. D., männlich, 52 Jahre, Nephrogener Hochdruck bei beidseitigen Zystennieren

Seit 1940 Hypertonus bekannt. 1966 Subarachnoidalblutung und Feststellung der Zystennieren. Wegen zunehmender Niereninsuffizienz 1970 Aufnahme in das chronische Hämodialyse-Programm. Insgesamt 62 Transfusionen im Untersuchungszeitraum.

Fall PT 10 = TZ 9

H. G., weiblich, 42 Jahre, Osteomyelofibrose mit basophiler Leukose

Vier Schwangerschaften (Beginn der letzten im Juli 1962).

Seit Frühjahr 1970 Übelkeit, Schwitzen und Belastungsdyspnoe. Diagnosestellung durch Knochenmarksbiopsie. Auf die ersten drei Bluttransfusionen im März 1971 Transfusionsreaktionen mit Fieber und Schüttelfrost. März 1971 bis August 1971: ungefähr 20 Bluttransfusionen.

2. Die Kasuistiken der Patienten mit Transfusionszwischenfällen (TZ)

Eine Übersicht ist in Tabelle XIX und Tabelle XXI gegeben.

Fall TZ 1

K. H., weiblich, 71 Jahre, Rektumkarzinom

1926 und 1930 komplikationslose Geburten. 1970 an einem Rektumkarzinom operiert. Vor der Operation erstmalig Gabe von einer Vollblutkonserve, nach vier Stunden Transfusionsreaktion mit Schüttelfrost und Erbrechen. Bei der zweiten Transfusion 14 Tage postoperativ zeigte sie eine leichtere Transfusionsreaktion.

Fall TZ 2

M. H., weiblich, 57 Jahre, Ileus

1939 Totgeburt; 1941 normale Schwangerschaft. 1962 Appendektomie und Relaparatomie wegen Verdacht auf ein Dickdarmkarzinom. Ende 1962 Dickdarmresektion. Während und nach der Operation erhielt sie mehrere Bluttransfusionen. Bei erneuter Transfusion 1970 trat nach 30 Minuten Schüttelfrost ein.

Fall TZ 3

A. K., weiblich, 37 Jahre, Postpartale Blutung

1954 und 1958 normale Geburten. 1970 bei der dritten Entbindung Komplikationen durch Plazenta praevia. Bei der ersten Transfusion ihres Lebens trat Schüttelfrost auf.

Fall TZ 4

J. G., männlich, 74 Jahre, Rezidivierendes Prostata-Adenom

Im Juni 1963 Elektresektion eines Prostata-Adenoms. Innerhalb acht Tagen postoperativ erhielt der Patient 17 Konserven Vollblut. 1966 Hämaturie bei Tumorrezidiv und Transfusion von zwei Konserven Vollblut. Im Dezember 1970 nach erneuter Transfusion nach 30 Minuten Schüttelfrost. Im Januar 1971 Elektrokoagulation und Gabe von drei Vollblutkonserven, die reaktionslos vertragen wurden.

Fall TZ 5

K. S., weiblich, 72 Jahre, Osteomyelofibrose

Zwei Schwangerschaften (letzte 1930). Wegen beträchtlicher Anämie vom September 1970 bis Februar 1971 insgesamt 23 Konserven Vollblut erhalten. Mitte Februar 1971 trat nach Transfusion einer Konserve Frischblut nach zwei Stunden Schüttelfrost und später Fieber auf. Die folgenden vier Vollblutkonserven wurden reaktionslos vertragen, nach den nächsten beiden erneut Schüttelfrost. In der Folgezeit Gabe von fünf Erythrozytenkonzentraten, die gut vertragen wurden.

Fall TZ 6

E. F., weiblich, 40 Jahre, Myeloblasten-Leukämie

1956 und 1964 normale Geburten. Im März 1971 erste Zeichen einer Anämie. Hier habe sie auf die erste Transfusion ihres Lebens Schüttelfrost bekommen. Ende April 1971 erneut Schüttelfrost nach Gabe von zwei Konserven Frischblut. Zwei Erythrozytenkonzentrate und acht Konserven gewaschener Erythrozyten wurden reaktionslos vertragen.

Die Fälle TZ 7 bis TZ 11 sind identisch mit den Fällen PT 1, 2, 5, 7 und 10.

3. Serologie der polytransfundierten Patienten

Die Seren polytransfundierter Patienten wurden über einen Zeitraum von zehn Monaten gesammelt. Während dieser Zeit wurden durch die Blutbank der Universitätskliniken Gießen ca. 12.400 Konserven transfundiert. Davon wurden ca. 2540 Blutfraktionierungen hergestellt. Diese verteilten sich zu 70 % auf Erythrozytenkonzentrate, zu 20 % auf gewaschene Erythrozyten und zu 10 % auf Thrombozytenkonzentrate.

Wir untersuchten 1255 Seren polytransfundierter Patienten auf HL-A-spezifische thrombozytäre Antikörper. Im Untersuchungszeitraum von zehn Monaten erschienen 67 Seren (5.3 %) positiv in der Suchreaktion.

Die 1255 Seren verteilten sich auf 536 verschiedene polytransfundierte Patienten (siehe auch Abbildung 4), 285 männliche und 251 weibliche. Die Altersgruppierung geht aus Abbildung 6 hervor. .

21 dieser Patienten (3.92 %), und zwar sieben männliche und 14 weibliche, waren positiv in der Suchreaktion.

Unter dem Patientenmaterial befanden sich 19 Patienten, 15 männliche und vier weibliche, die im Rahmen des chronischen Hämodialyseprogramms regelmäßig Bluttransfusionen erhielten. Aus dieser Gruppe waren zwei Patienten positiv in der Suchreaktion (10.53 %).

Bei 16 aller polytransfundierten Patienten war in der Suchreaktion ein HL-A-Antikörpermuster deutlich erkennbar gewesen. Dazu siehe auch Tabelle XXII. Von diesen gewannen wir eine größere Serummenge und absorbierten die vermuteten Antikörper an typisierte Plättchen.

Serum PT 9 war nur in der Lymphozytotoxizitätsmethode erkennbar positiv gewesen. Nach der Absorption und Elution dieses Serums mit Plättchen waren HL-A-Antikörper auch in der MKBR mit Thrombozyten erkennbar.

Von 17 an Plättchen adsorbierten und eluierten Seren waren zehn Eluate in der MKBR positiv (1.87 % aller Patienten). Siehe auch Abbildung 4.

Wir ermittelten drei monospezifische Antiseren, vier bispezifische und drei polyspezifische Antiseren. Kreuzreaktionen konnten in den Eluaten in fünf Fällen nachgewiesen werden. Und zwar zwischen den Spezifitäten:

Anti-HL-A 9 und 1 / Anti-HL-A 1 und 11 /

Anti-HL-A 3 und 1 / Anti-W15 und Anti W 17 /

Anti-W10 und Anti-W15 und Anti-HL-A 13.

PT 1: Anti-HL-A 9 und Anti-HL-A 1 + 9 kreuzreagierend.

PT 2: Anti-HL-A 7 und Anti-HL-A 1 + 3 kreuzreagierend.

PT 3, PT 4, PT 6: jeweils Anti-HL-A 2

PT 5: Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11

PT 7: Anti-W15 + W17 kreuzreagierend.

PT 8: Anti-W10 und Anti-HL-A 13 kreuzreagierend, sowie
Anti-W10 + Anti-HL-A 13 + Anti-W 15 kreuzreagierend.

PT 9: Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 1 + 11 kreuzreagierend.

PT 10: Anti-HL-A 2 / Anti-HL-A 5 / Anti-HL-A 9 /
Anti-HL-A 13 / Anti-W15 / Anti-W 17 / (Anti-W14).

Siehe dazu auch Tabelle XXII.

Fall PT 1 = TZ 7

W. A., männlich, 59 Jahre, HL-A-Phänotyp: (2, 1o/W5, W17)

Wir untersuchten zwölf Seren des Patienten (Seren 1/I-XII). Keine Serumprobe wurde in einem kürzeren Zeitabstand als von acht Tagen abgenommen. Wir testeten diese zwölf Seren gegen mindestens 42 verschiedene Plättchen in der MKBR. Im Testzellpanel waren die Antigene HL-A 9 und HL-A 1 jeweils zehnmal vertreten.

Die Seren 1/I-V zeigten in der Suchreaktion das Ergebnis Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 9. Die Seren 1/II und 1/III wiesen zusätzliche positive Reaktionen mit folgenden Zellen auf: Zelle (3, -/12, W19) und Zelle (3, -/7, W15).

Serum 1/VII, 1/IX und 1/XI waren in der MKBR negativ. Die zeitlich dazwischenliegenden Seren 1/VIII und 1/X zeigten schwache Reaktionen, mit HL-A 9 stärker als mit HL-A 1.

Wir absorbierten Serum der Probe 1/V an sechs verschiedene Plättchen. Alle Eluate zeigten in der MKBR mit 4o bzw. 186 Plättchen die Antikörperspezifität Anti-HL-A 9.

Das Eluat aus dem Absorptionsversuch mit Zelle (1, 9/W17, -) wies Anti-HL-A 9 und Anti-HL-A 1 auf. Eine Kreuzreaktion von Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 9 im Serum 1/V wurde durch die Absorption an die Zelle (1, 2/8, W15) bewiesen. Die Einzelheiten sind der Tabelle III zu entnehmen.

Fall PT 2 = TZ 8

E. L., weiblich, 76 Jahre, HL-A-Phänotyp: (2, 11/13, W1o)

13 Seren der Patientin E. L. (Seren 2/I-XIII) wurden in der Suchreaktion gegen mindestens 41 Panelplättchen getestet. Die Verteilung der Antigene im Testpanel war:

Zehnmal HL-A 1, 13 mal HL-A 3, 13 mal HL-A 7 und zwölfmal HL-A 9.

Die einzelnen Serumproben zeigten unterschiedlich starke Reaktionen mit HL-A 1, 3, 7 und 9. Die Ergebnisse in der Suchreaktion wiesen auf einen hohen Gehalt an Anti-HL-A 3 hin.

Die Absorptionsversuche an die in Tabelle IV aufgeführten Zellen erfolgten mit Serum der Probe 2/VI. Alle Eluate zeigten in der MKBR mit 40 bzw. 146 Panelzellen positive Reaktionen mit HL-A 1 und HL-A 3. Durch positive Reaktionen mit HL-A 3 bei den Eluaten aus den Versuchen mit den Zellen (1, 11/8, W5) und (1,2/W15, W17) konnte eine Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 3 nachgewiesen werden. Weiterhin enthielten die Eluate aus den Absorptionen mit den Zellen (2, 3/7,-) (3,-/7, W15) (3₇/7,8) (3, 10/7,W5) und (3, W28/7, W17) neben Anti-HL-A 3 auch Anti-HL-A 1.

Anti-HL-A 7 konnte im Serum 2/VI ebenfalls nachgewiesen werden.

Serum 2/VI enthielt Anti-HL-A 7, sowie Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 3, welche miteinander kreuzreagierten. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV und in Abbildung 5 zusammengefaßt.

Fall PT 3

J. G., weiblich, 51 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Wir untersuchten 16 verschiedene Seren gegen mindestens 19 Panelzellen. Zehn dieser Seren zeigten eine unspezifische Komplementfixation und wurden nicht mehr weiter untersucht. Die restlichen sechs Seren (3/I-VI) wurden gegen insgesamt 46 Panelzellen untersucht. Bei allen Seren fanden wir eine gleich starke Reaktion mit allen HL-A 2 Zellen des Testpanels.

Es erfolgten Absorptionsversuche mit Serum der Probe 3/I an acht verschiedene Zellen. Die Eluate der Absorptionen mit den Zellen (2, 3/5, 12) und (W28, -/12, W5) zeigten keine Komplementfixation in der MKBR mit 40 Testzellen. Sämtliche anderen Eluate wiesen gleich starke positive Reaktionen mit allen HL-A 2 Zellen des Testpanels auf.

Serum 3/I enthielt Anti-HL-A 2. Eine Kreuzreaktion mit Anti-W28 konnte ausgeschlossen werden. Siehe dazu auch Tabelle V.

Fall PT 4

C. L., weiblich, 34 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Acht Seren (4/I-VIII) wurden gegen mindestens 42 verschiedene Testzellen untersucht. Alle acht Seren reagierten mit HL-A 2, welches 17 mal im Testpanel vertreten war. Zusätzliche Reaktionen traten bei den Seren 4/VI und 4/VII auf und wiesen auf ein Anti-W5 hin.

Wir absorbierten Serum der Probe 4/VI an neun verschiedene Zellen. Sechs Eluate dieser Absorptionen waren bei allen HL-A 2 Zellen positiv. Alle Eluate wurden gegen 40 Testzellen untersucht. Das Serum 4/VI enthielt Anti-HL-A 2. Anti-W5 konnte durch Absorption und Elution nicht nachgewiesen werden. Es lag keine Kreuzreaktion mit Anti-W28 vor. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse gibt Tabelle VI.

Fall PT 5

M. E., weiblich, 68 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Wir untersuchten zwei Seren der Patientin M. E. Serum 5/I war in der Suchreaktion mit 40 Testzellen polyspezifisch.

Es konnte der Verdacht auf das Vorliegen von Anti-HL-A 1, 11, 12, 13 und Anti-W15 geäußert werden. Serum 5/II, gegen 41 Zellen getestet, ließ klarer auf die Antikörperspezifitäten Anti-HL-A 1 und 11 schließen.

Wir absorbierten Serum der Probe 5/II an fünf verschiedene Zellen. Sämtliche Eluate wurden gegen 40 Zellen getestet, unter denen elfmal HL-A 1 und fünfmal HL-A 11 vertreten war. Vier Eluate waren positiv mit HL-A 1.

Das Serum 5/I enthielt Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11. Näheres ist aus Tabelle VII zu ersehen.

Fall PT 6

N. R., männlich, 70 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Es wurden drei Seren (6/I-III) gegen mindestens 40 Zellen in der MKBR getestet. Alle waren mit HL-A 2 positiv. Wir absorbierten Serum der Probe 6/II an acht Zellen. Das Eluat aus der Zelle (9,-/8, W17) ergab schwache Reaktionen mit HL-A 2.

Sämtliche anderen Eluate zeigten gleich starke Reaktionen mit allen HL-A 2 Zellen des Testpanels. Untersucht wurden die Eluate gegen 40 Testzellen, unter denen 13 mal HL-A 2 und fünfmal W28 vertreten war.

Serum 6/II enthielt Anti-HL-A 2. Eine Kreuzreaktion mit Anti-W28 konnte nicht festgestellt werden. Die Ergebnisse im Einzelnen zeigt Tabelle VIII.

Fall PT 7

O. R., männlich, 68 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Wir testeten zwei Seren des Patienten mit 40 bzw. 48 Zellen in der MKBR. Beide Seren wiesen auf das Vorliegen von Anti-W15 und Anti-W17 hin.

Wir absorbierten Serum der Probe 7/II an acht verschiedene Plättchen. Fünf Eluate reagierten mit allen sechs W15-Zellen und allen acht W17-Zellen des Testpanels aus 40 Zellen.

Serum 7/II enthielt Anti-W15 und Anti-W17, welche miteinander kreuzreagierten. Siehe dazu auch Tabelle IX.

Fall PT 8

A. E., weiblich, 51 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Zwei Seren der Patientin A. E. wurden gegen 40 Zellen in der Suchreaktion getestet. Wir fanden Reaktionen mit HL-A 13 und W10, sowie schwächer mit W5.

Serum der Probe 8/II wurde an sechs verschiedene Zellen absorbiert. Alle Eluate, getestet gegen 40 Zellen, reagierten mit HL-A 13 und W10-Zellen. Aus der Reaktion des Eluats aus der Absorption mit der Zelle (3, 11/W10,-) ist eine Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 13 und Anti-W10 zu folgern. Die Eluate aus den Absorptionen mit den Zellen (3,-/7, W15) und (1,2/8, W15) wiesen Reaktionen mit HL-A 13, W10 und W15 auf. Serum 8/II enthielt Anti-W10 und Anti-HL-A 13, welche miteinander kreuzreagierten. Zusätzlich war Anti-W15 vorhanden, welches mit einem oder beiden der erstgenannten Antikörper kreuzreagierte.

Die Ergebnisse sind in Tabelle X zusammengefaßt.

Fall PT 9

G. D., männlich, 52 Jahre, HL-A-Phänotyp: (2,-/W15,-)

Serum PT 9 war in der Suchreaktion mit 40 Testplättchen negativ. Ein positives Ergebnis in der Zytotoxizität mit dem Verdacht auf Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11 veranlasste Absorption und Elution und das Austesten der Eluate gegen 40 Zellen in der MKBR.

Die Eluate aus den Absorptionen an die Zellen (1, 11/8, W5) und (3, 11/W10,-) bewiesen den Gehalt an Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11, sowie die Kreuzreaktion beider Antikörper.

Serum 9 enthielt Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 1 + 11, welche miteinander kreuzreagierten. Näheres ist aus Tabelle XI zu ersehen.

Fall PT 10

H. G., weiblich, 42 Jahre, HL-A-Phänotyp: (1,-/7,8)

Wir untersuchten drei Seren der Patientin (10/I-III) gegen mindestens 40 Zellen in der Suchreaktion. Es lag ein äußerst polyspezifisches Antikörpermisch vor. Es wurde versucht, folgende Spezifitäten durch Absorptionsversuche zu beweisen: Anti-HL-A 2, 5, 9, 13, Anti-W14, W 15 und W17.

Wir absorbierten Serum der Probe 10/III an 17 verschiedene Zellen. Die Ergebnisse nach dem Austesten der Eluate gegen 40 bzw. 43 Zellen schienen nicht zu einer näheren Klärung der Antikörperspezifitäten beizutragen. Unter der Annahme möglicher Kreuzreaktionen und unter Berücksichtigung der HL-A-Typisierung der Patientin ergab sich jedoch folgendes Ergebnis:

Nach der Häufigkeit der Reaktionen in der MKBR geordnet, enthält das Serum 10/III die Antikörper Anti-W17, Anti-HL-A 5, Anti-W15,

Anti-HL-A 2, Anti-HL-A 13, Anti-HL-A 9 und schwächer
Anti-W14.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse gibt Tabelle XII.

Ergebnisse mit den Seren polytransfundierter Patienten, die aus
Mangel an größeren Serummenngen nicht weiter durch Absorption
und Elution geklärt werden konnten.

Fall PT 11

I. P. L., weiblich, 38 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

In der Suchreaktion wurden zwei Seren gegen 41 Testzellen unter-
sucht. Beide zeigten gleich starke Reaktionen mit allen sechs HL-A
5 Zellen. Konkordanz 100 %

Fall PT 12

M. H., weiblich, 44 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Eine Serumprobe der Patientin wurde gegen 41 Zellen getestet.
Das Ergebnis wies eindeutig auf Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 9
hin. Konkordanz 95,5 %

Fall PT 13

W. N., männlich, 61 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Getestet wurde ein Serum gegen 42 Panelzellen. Positive Reaktionen
fanden sich bei 15 von 16 im Panel vertretenen HL-A 2 Zellen.
Konkordanz 98 %

Fall PT 14

E. R., weiblich, 74 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Wir untersuchten eine Serumprobe der Patientin gegen 47 Panelzellen. Das Serum war bei allen HL-A 2 Zellen positiv, zusätzliche Reaktion war bei einer W28-Zelle zu verzeichnen. Konkordanz für Anti-HL-A 2: 98 %

Fall PT 15

U. L., weiblich, 30 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

Es wurden drei Seren getestet. Die Seren 15/I und II wiesen deutlich auf Anti-HL-A 5 hin. Konkordanz 90 bzw. 98 %. Serum 15/III, welches zwei Monate später abgenommen war, zeigte lediglich noch schwache, polyspezifische Reaktionen.

Fall PT 16

M. S., weiblich, 45 Jahre, HL-A-Phänotyp: nicht bestimmt

In der Suchreaktion wurden drei Seren gegen mindestens 40 Zellen getestet; die Ergebnisse bei Serum 16/I deuteten auf Anti-HL-A 3 und Anti-HL-A 7, sowie Anti-W27 hin. Serum 16/II, zwei Wochen später abgenommen, gab positive Reaktionen nur noch bei HL-A 3 und HL-A 7 Zellen. Konkordanz 93 %. Serum 16/III, welches vier Wochen nach 16/II abgenommen war, ließ Anti-HL-A 7 deutlicher hervortreten als Anti-HL-A 3.

Die Seren von fünf weiteren Patienten zeigten keine klaren Spezifitäten, waren aber in der Suchreaktion am häufigsten positiv bei den Antigenen:

Fall PT 17 - A. S., weiblich, 56 Jahre : HL-A 2

Fall PT 18 - G. B., weiblich, 49 Jahre: HL-A 2, 5 und W5

Fall PT 19 - W. R., weiblich 40 Jahre: HL-A 7

Fall PT 20 - B. H., männlich, 24 Jahre: HL-A 5 und W5

Fall PT 21 - H. K., männlich, 67 Jahre: W15

Diese Ergebnisse sind in Tabelle XXII nochmals genauer dargestellt.

4. Serologie der Patienten mit Transfusionszwischenfällen

Wir untersuchten 72 gemeldete nicht-hämolytische Transfusionszwischenfälle auf HL-A-spezifische thrombozytäre Antikörper. Im Untersuchungszeitraum von 14,5 Monaten waren über die Blutbank Gießen ca. 20.000 Blutkonserven transfundiert worden.

Es erschienen 14 Seren (19,4 %) positiv in der Suchreaktion. Davon konnte von elf Patienten (15,3 %) Serum gewonnen werden und die positive Reaktion in der Suchreaktion durch Absorption und Elution geklärt werden. Fünf dieser Patienten waren schon als Polytransfundierte registriert und wurden auch unter dem Kapitel "Serologie der polytransfunden Patienten" abgehandelt.

Geschlechts- und Altersverteilung der 72 Patienten mit Transfusionsreaktionen geht aus Tabelle XXIII hervor. Die Schwangerschafts- und Transfusionsanamnese ist in der Tabelle XXI aufgeführt.

Wir ermittelten in allen Fällen die Art der Transfusionsreaktion sowie den Zeitpunkt des Auftretens nach Transfusionsbeginn. Als febrile Transfusionsreaktion galt ein Temperaturanstieg auf 38 Grad C. oder mehr von der Normaltemperatur aus. Auch ein starker Temperaturanstieg aus sonst nicht erklärbarem Grund bei Patienten, die schon Fieber hatten und eine Transfusion erhielten, galt als Transfusionsreaktion.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen XXIV und XXV aufgeführt.

Durch Absorptions- und Elutionsversuche mit elf positiven Seren konnten in allen Fällen die Antikörperspezifitäten aufgedeckt werden. Wir fanden sieben bispezifische und vier polyspezifische Antiseren.

TZ 1: Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 7

TZ 2: Anti-HL-A 1 + 11 + (3) kreuzreagierend, sowie
Anti-HL-A 1 + 3 + 10 + 11 kreuzreagierend.

TZ 3: Anti-HL-A 2 und Anti-W17.
Anti-HL-A 7 + Anti-W27 kreuzreagierend.

TZ 4: Anti-HL-A 3 und Anti-W5

TZ 5: Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 9 (9 + 2 fraglich kreuzreagierend)

TZ 6: Anti-HL-A 7 und
Anti-HL-A 7 + Anti-W27 kreuzreagierend.

TZ 7: Anti-HL-A 9 und
Anti-HL-A 9 + 1 kreuzreagierend.

TZ 8: Anti-HL-A 7 und
Anti-HL-A 1 + 3 kreuzreagierend.

TZ 9: Anti-W17 / Anti-HL-A 5 / Anti-W15 / Anti-HL-A 2 /
Anti-HL-A 13 / Anti-HL-A 9 / Anti-W14.

TZ 10: Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11 (11 nicht sicher bewiesen).

TZ 11: Anti-W15 + W17 kreuzreagierend.

Kreuzreaktionen konnten nachgewiesen werden in sechs Fällen, und zwar zwischen den Spezifitäten

Anti-HL-A 1, 3, 10 und 11 ; zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W27; zwischen Anti-HL-A 1 und 9; zwischen Anti-HL-A 1 und 3 sowie zwischen Anti-W15 und W17.

Siehe dazu auch Tabelle XXII.

Fall TZ 1

K. H., weiblich, 71 Jahre, HL-A-Phänotyp: (11,-/8,12)

Wir untersuchten ein Serum der Patientin K. H. In der Suchreaktion mit 40 Zellen ergab sich die Antikörperspezifität Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 7. Es wurde Serum der Probe an zehn verschiedene Zellen absorbiert. Sämtliche Eluate zeigten positive Reaktionen bei den Antigenen HL-A 2 und 7.

Serum TZ 1 enthielt Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 7. Eine Kreuzreaktion mit Anti-W 28 konnte ausgeschlossen werden. Näheres ist aus Tabelle XIII zu ersehen.

Fall TZ 2

M. H., weiblich, 57 Jahre, HL-A-Phänotyp: (9,-/12, W10)

Es wurde ein Serum gegen 39 Zellen in der Suchreaktion getestet. Wir fanden ein Antikörpermisch aus Anti-HL-A 1, 3, 10 und 11. In der Verdünnung 1:6 erschien im Serum TZ 2 nur noch Anti-HL-A 1.

Es wurde Serum an vier verschiedene Zellen absorbiert. Sämtliche Eluate zeigten positive Reaktionen bei den Antigenen HL-A 1, 3 und 11.

Serum TZ 2 enthielt ein kreuzreagierendes Antikörpergemisch von Anti-HL-A 1, 3, 10 und 11.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse gibt Tabelle XIV.

Fall TZ 3

A. K., weiblich, 37 Jahre, HL-A-Phänotyp: (3, 11/-,-)

Das Serum, getestet gegen 38 Zellen, zeigte die Antikörperspezifität Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 7. Wir absorbierten an neun verschiedene Zellen und fanden einen Gehalt an Anti-W17, Anti-HL-A 2, sowie die kreuzreagierenden Antikörper Anti-HL-A 7 + Anti-W27.

Die Ergebnisse sind in Tabelle XV zusammengefaßt.

Fall TZ 4

J. G., männlich, 74 Jahre, HL-A-Phänotyp: (2, -/12, W10)

Gegen 39 Zellen testeten wir ein Serum des Patienten. Wir fanden Anti-HL-A 3 und Anti-W5. Nach Absorptionen an sieben verschiedenen Zellen ließ sich das Ergebnis der Suchreaktion bestätigen. Siehe dazu auch Tabelle XVI.

Fall TZ 5

K. S., weiblich 72 Jahre, HL-A-Phänotyp: (3, 11/7, W5)

Es wurde ein Serum der Patientin K. S. untersucht. Es ergaben sich die Antikörperspezifitäten Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 9. Wir absorbierten an acht verschiedene Zellen und konnten Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 9 bestätigen. Die Eluate aus den Zellen (9,-/8, W17) und (1, 9/W17, W18) ließen in der Untersuchung auf eine fragliche Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 9 und Anti-HL-A 2 schließen.

Näheres ist aus Tabelle XVII zu ersehen.

Fall TZ 6

E. F., weiblich, 40 Jahre, HL-A-Phänotyp: (1, 11/W5,-)

Wir testeten ein Serum der Patientin gegen 43 Zellen und fanden Anti-HL-A 7.

In den Absorptionen an zehn verschiedene Zellen bestätigte sich das Ergebnis der Suchreaktion. Zusätzlich wurde eine Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W27 aufgedeckt. Siehe dazu auch Tabelle XVIII.

Die Ergebnisse mit den Seren der Fälle TZ 7 bis TZ 11 sind unter der Serologie der polytransfunden Patienten aufgeführt.

E. KRITISCHE ANALYSE METHODISCHER PARAMETER

1. Auswahl und Sammeln des Materials

Verwendet wurden die Seren aller Patienten, für die an mindestens drei verschiedenen Tagen Blutkonserven gekreuzt worden waren. Es konnte nicht kontrolliert werden, ob der betreffende Patient auch alle für ihn gekreuzten Blutkonserven erhalten und ob er schon in anderen Kliniken Bluttransfusionen erhalten hatte. Daher können auch die Aufstellungen über Anzahl und Art der Transfusionen in den Abbildungen 8 und 9 keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit erheben. Auch ist es unwahrscheinlich, daß alle Transfusionszwischenfälle im Untersuchungszeitraum an die Blutbank gemeldet worden sind. Daher sind keine genauen Angaben über die Häufigkeit von Transfusionsreaktionen zu machen.

2. Puffer und p_H -Wert

MAYER (32) zeigte 1961 den Einfluß des p_H auf die Komplementaktivierung. Die ersten Untersuchungen über p_H Werte in der Mikrokomplementbindungsreaktion mit Plättchen wurden von D'AMARO (17) veröffentlicht.

Wie in unserer Arbeitsgruppe (25) gezeigt wurde, führt ein alkalischer p_H , hier verursacht durch unverdünnte Seren zum Übersehen schwacher Antikörper in der Suchreaktion. Wir fanden, daß die Verwendung von 4 μ l Puffer im Reaktionsgemisch und zusätzlich eine Verdünnung der Seren 1:2 bis 1:4 in Puffer notwendig sind, um durch eine Erniedrigung des p_H zu bestmöglichen Ergebnissen zu kommen.

D'AMARO (17) beschreibt eine Erniedrigung des p_H -Wertes um 0.11 nach Zugabe der sensibilisierten Hammelblutkörperchen und eine weitere Ansäuerung um 0.16 nach 30 Minuten Inkubationszeit.

Wir verwandten für unsere Versuche Veronalpuffer nach MAYER (32) in einer Menge von 30 % des Gesamtvolumens im Testansatz, im Unterschied zu SVEJGAARDS Semi-Mikromethode mit 70 % Pufferanteil und D'AMAROS Mikromethode mit ca. 40 % Puffer im Reaktionsgemisch. COLOMBANI verwendet in seiner Mikromethode Puffer nur in der Komplementverdünnung. Vergleiche hierzu auch Tabelle XXVII.

3. Inkubationszeit

Nach Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe (25) spielt auch die Inkubationszeit eine Rolle bei der MKBR. Die Ergebnisse zeigen eine klare Abhängigkeit zwischen Antigenkonzentration, Inkubationszeit und Komplementfixation. Die Autoren der verschiedenen Mikromethoden (siehe dazu Tabelle XXVII) inkubieren einheitlich alle die Testplatten 60 Minuten und nach Zugabe der sensibilisierten Hammelblutkörperchen nochmals 30 Minuten.

Wir fanden, daß bei den genannten und bei kürzeren Inkubationszeiten starke Antiseren zufriedenstellende Ergebnisse zeigten. Will man jedoch auch schwache Antikörper aufdecken, empfiehlt sich eine längere Inkubationszeit vor Zugabe der Hammelblutkörperchen. Für die Suchreaktion erscheint uns eine Zeit von 120 Minuten für die erste Inkubation und 30 Minuten für die zweite Inkubation angebracht.

4. Antiseren

Serumproben für die Suchreaktion wurden inaktiviert bei - 20 Grad C. eingefroren. Größere Serummengen für Absorptionsversuche wurden bei - 65 Grad C. gelagert und erst kurz vor Gebrauch im Versuch hitzeinaktiviert.

KISSMEYER-NIELSEN (30) empfiehlt eine Lagerung bei - 70 bis - 80 Grad C. oder Gefriertrocknung der Antiseren und Lagerung bei + 4 Grad C.

Um bakterielle Verunreinigungen auszuschalten und das Verderben der Antiseren zu verhindern, wurden unsere Antiseren vor dem Einfrieren, bzw. vor der Hitzeinaktivierung kleiner Serumproben mit einem Zusatz von 1/100 Volumen 1 %igem Natriumazid versehen und fünf Minuten bei $23.000 \times g$ zentrifugiert. Vor der Verwendung in den Versuchen wurden die aufgetauten Seren nochmals fünf Minuten bei $23.000 \times g$ zentrifugiert.

Wir verdünnten alle Antiseren zur Verwendung in der Suchreaktion 1:2 mit Veronalpuffer und erhielten so eine Endverdünnung des Serums von 1:10 im Reaktionsgemisch. Dadurch erreichten wir eine Serumeinsparung und konnten in manchen Fällen ein "Prozonen-Phänomen" bei starken Antiseren ausschalten. Zeigte ein Serum auch nach der üblichen Verdünnung noch unspezifische Komplementhemmung, wurde bis 1:10 mit Veronalpuffer verdünnt.

Nur bei einigen Serumproben der Patientin J. G. (Fall PT 3) war die Komplementhemmung nicht durch Verdünnung zu beseitigen. Hier nahmen wir das Vorliegen antikomplementärer Serumfaktoren an.

Eine Verdünnung der Antiseren ist außerdem angebracht, um ein Überschleppen stärkster Antikörper in schwächere Antiseren beim Pipettieren zu verhindern.

Durch Titration bi- oder oligospezifischer Antiseren kann man die Stärke der verschiedenen Antikörperkomponenten ermitteln und dann durch entsprechende Verdünnungen brauchbare monospezifische Antiseren herstellen.

5. Plättchensuspensionen

Die Herstellung der Testplättchen erfolgte durch mehrfaches Waschen und Zentrifugieren von EDTA-Blut in Anlehnung an die Beschreibungen von SVEJGAARD (52) und KISSMEYER-NIELSEN (30). Eine Verunreinigung mit Erythrozyten sollte hierbei möglichst klein gehalten werden, da komplementfixierende Erythrozytenisoantikörper, Anti-A und Anti-B sonst falsch positive Reaktionen geben können (4). Äußerst selten können Anti-A und Anti-B auch einmal Komplement fixieren, wenn sie mit A- und B-Antigenen auf Plättchen zusammentreffen (53). Auch ACD, EDTA und andere Antikoagulantien wirken antikomplementär und müssen daher gut ausgewaschen werden (30).

Wie wir auch feststellen konnten, ist die Fähigkeit frischer Plättchensuspensionen mit korrespondierenden Antikörpern Komplement zu fixieren relativ gering, nimmt aber nach einiger Lagerungszeit zu. SVEJGAARD (52) berichtet von einigen Tagen, KISSMEYER-NIELSEN (30) hält die "Reifung" schon nach 24 Stunden für ausreichend. COLOMBANI (14) erzielte gute Erfolge durch eine Behandlung mit destilliertem Wasser oder mit Ammoniumoxalat und verwendet die Plättchensuspensionen dann sofort nach der Herstellung.

Wir suspendierten die mehrfach gewaschenen Plättchen in 0.1 %igem Natriumazid in phys. Kochsalzlösung und ließen sie mindestens 24 Stunden bei + 4 Grad C. stehen bis zur photometrischen Einstellung der Zellkonzentration.

Wir bemaßen die Plättchenkonzentration auf ca. 300.000/ μ l für die Testsuspension, erhielten also eine endgültige Konzentration von 100.000/ μ l im Reaktionsgemisch.

Wie spätere methodische Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe (25) zeigten, liegt die optimale Zellkonzentration im Reaktionsgemisch zwischen 30.000 bis 100.000/ μ l.

Die Lagerung führten wir wie von ASTER (3, 4) und SHULMAN (46) vorgeschlagen in Suspension mit 0.1 % igem Natriumazid in phys. Kochsalzlösung bei + 4 Grad C. durch. Obwohl mit der Zeit ein Antigenverlust eintritt, werden falsch negative Ergebnisse erst nach mehr als vier Monaten Lagerung registriert (30). Bei der Behandlung mit destilliertem Wasser oder mit Ammoniumoxalat ist die Verminderung der Antigene ausgeprägter (53). Weitere Methoden zur Lagerung gibt D'AMARO (17) an:

Langzeitaufbewahrung in flüssigem Stickstoff oder bei - 70 Grad C. Hier zeigten sich jedoch erhebliche Nachteile in der Reaktion mit einigen schwachen Antiseren.

6. Komplement

SVEJGAARD (53) untersuchte die Unterschiede zwischen den Komplementarten in der Komplementfixationstechnik mit HL-A-Isoantikörpern bei Thrombozyten. Mit menschlichem Komplement wurden die besten Ergebnisse erzielt. Kaninchenserum sollte nicht verwandt werden, da menschliche Plättchen eine antikomplementäre Wirkung gegen Kaninchenkomplement zeigen. D'AMARO (17) nimmt in seinem Komplementfixationstest Meerschweinchenkomplement wegen der besseren Lagerungsfähigkeit bei + 4 Grad C.

Wir verwandten menschliches AB-Serum als Komplementquelle und lagerten es in kleinen Portionen bei - 25 Grad C.

Die Komplementverdünnung wurde mit Hilfe der Komplementtitration ermittelt. Wir bestimmten die Komplementverdünnung, die eine 90 %ige Hämolyse im Titrationsversuch verursachte (H 90), da eine Komplementmenge, die eine 100 %ige Hämolyse macht (H 100) schlecht zu definieren ist.

Manche Gruppen (12, 60) fügen 2 H 100 zum Reaktionsgemisch um den störenden Effekt antikomplementärer Seren auszuschalten.

Andere (4, 52) verwenden 1.5 H 50 und erhöhen damit die Empfindlichkeit des Tests.

Da wir antikomplementäre Wirkungen durch Antiserumverdünnung auszuschalten versuchten und andererseits unspezifische schwach positive Reaktionen durch eventuelle Verunreinigungen hervorgerufen, verhindern wollten, verwandten wir eine Komplementkonzentration von 2 H 90. Seren, deren H 90 unter der Titrationsstufe 1:60 und über 1:80 lag, verworfen wir als Komplementquelle, weil damit schlechte Ergebnisse im Versuch erzielt wurden.

7. Sensibilisierte Hammelblutkörperchen (SHBK)

Eine 2.5 %ige Suspension von Hammelblutkörperchen in phys. Kochsalzlösung wurde hergestellt und photometrisch eingestellt. Für die Sensibilisierung verwandten wir vier Maximal Haemolytic Doses (M. H. D.) Amboceptor in einer Verdünnung von 1:1000 in phys. Kochsalzlösung. Die Titration des Hämolsins führten wir nach KISSMEYER-NIELSENS Angaben (30) durch.

Die Aufbewahrung der SHBK-Suspension bei + 4 Grad C. war nur zwei Tage möglich, da nach längerer Lagerung zustarke Hämolyse bei Verwendung im Reaktionsgemisch auftrat.

Die Feststellungen von ASTER (4) und SHULMAN (46), daß Hammelblut etwa eine Woche bei + 4 Grad C lagern muß, bevor es verwendungsfähig ist, konnten wir bestätigen.

Wie D'AMARO (17) berichtet, erhält man bessere Ergebnisse, wenn die Testplatten vor Ablesung zentrifugiert werden. Diese Beobachtung haben wir verwertet.

Eine zweite Ablesung durch eine unabhängige Person mußte spätestens nach sechs Stunden vorgenommen werden, da sonst die fortschreitende Hämolyse die Ergebnisse veränderte.

8. Absorption und Elution

Die Absorption und Elution HL-A-spezifischer thrombozytärer Antikörper an Thrombozyten mit bekanntem HL-A-Antigenmuster ermöglicht

- a) die Spezifitätssicherung eines vermuteten monospezifischen Antiserums,
- b) die Trennung polyspezifischer Antiseren mit Hilfe verschiedener HL-A-Antigene und
- c) die Aufdeckung kreuzreagierender HL-A-spezifischer Antikörper.

Durch Reduktion des Eluatvolumens gegenüber dem Ausgangsvolumen des Antiserums ist außerdem eine Anreicherung des Antikörpers möglich.

Die Absorption von Antiseren als wichtigster Beweis für deren Monospezifität wurde 1967 von WALFORD (58) gefordert.

SVEJGAARD (53) hält die Absorption für sehr brauchbar zur Herstellung von Typisierungsseren.

Wir arbeiteten nach der Methode von SHULMAN (46), die auch COLOMBANI (12) verwandte. Hier wird der absorbierte Antikörper durch Ansäuern von den Zellen abgelöst. VAN DER WEERDT (60) eluierte thromboagglutinierende Antikörper durch Erhitzen der Plättchen.

Die besten Erfolge zeigten sich bei der Verwendung von sechs ml Plättchensuspension ($300.000/\mu\text{l}$) und je nach Antikörpertiter Zugabe von ein bis drei ml inaktiviertem Antiserum bei jedem Absorptionsschritt. Üblicherweise absorbierten wir zweimal Antiserum an die vorgegebenen Plättchen. Nur bei schwachen Antiseren wiederholten wir den Absorptionsschritt nochmals. Wichtig erschien uns eine gründliche Resuspendierung der Zellen vor jeder Antiserumzugabe und die Inkubation unter ständigem Schütteln. Die Absorption mit einigen Plättchen, die nur unvollständig zu resuspendieren waren, brachte deutlich schwächere Eluate. Nach Ansäuerung der Antikörper-beladenen Zellen bis p_{H} 3,0-2,8 zeigte eine Inkubation von zehn Minuten bei Zimmertemperatur gute Ergebnisse.

Der Beweis einer Antikörperspezifität mit Hilfe des Absorptionsversuches kann auf zwei Arten durchgeführt werden:

1. durch den Nachweis des vermuteten Antikörpers im Eluat und
2. durch den Nachweis des Verschwindens eines Antikörpers aus dem Absorbat.

Für den Nachweis aus dem Absorbat muß der Antikörper durch zahlreiche Absorptionen mit der gleichen Zelle aus dem Antiserum entfernt werden.

Hierzu sind größere Mengen Antiserum notwendig. Da uns in den meisten Fällen nur sehr wenig Antiserum zur Verfügung stand, verwandten wir die Methode des Nachweises im Eluat.

9. Vergleich der Methoden

Die Wahl der Methoden bei der Suche nach HL-A-spezifischen Antikörpern und zur HL-A-Typisierung hängt von der Empfindlichkeit, der Reproduzierbarkeit, der Versuchsdauer und dem Verbrauch an Serum und Zellen ab.

SVEJGAARD (50) zeigte, daß die Leukoagglutination empfindlicher als die Lymphozytotoxizität und diese wiederum empfindlicher als die C'-Fixation mit Plättchen ist. Das mag der Grund dafür sein, daß einige HL-A-Antigene mit unserer Methode noch nicht gefunden worden sind. Vergleichende Untersuchungen mit der Plättchen-MKBR und der Lymphozytotoxizitätsreaktion lassen aber den Schluß zu, daß alle HL-A-Antigene auf Thrombozyten vorhanden sind (35). Die Bestimmung der Transplantationsantigene des HL-A-Systems auf Plättchen ist somit prinzipiell möglich geworden. Mit einem empfindlicheren Test ist es wohl einfacher, aktive Seren zu finden, aber gleichzeitig schwieriger monospezifische zu erhalten. Wohl haben sich manche unserer monospezifischen Antisera bei einer Überprüfung mit der Lymphozytotoxizitätsmethode als polyspezifische erwiesen, aber es war uns möglich, mit den von uns definierten monospezifischen Antisera im Rahmen unserer Methode serologisch einwandfrei zu arbeiten.

Ein großer Vorteil der MKBR mit Plättchen ist die hohe Reproduzierbarkeit. Für die beste Leukozyten-Typisierungstechnik liegt diese unter 95 % (59) und es ist festgestellt worden (42), daß die C'-Fixation mit Plättchen eine höhere Reproduzierbarkeit aufweist als die Lymphozytotoxizität und die Leukoagglutination.

Die Versuchsdauer der verschiedenen Techniken liegt annähernd gleich bei zwei bis drei Stunden. Ein Nachteil unserer Methode ist die Plättchenreifung von 24 Stunden. Verwendet man aber COLOMBANIS Vorschläge (14), ist die Plättchensuspension sofort gebrauchsfertig.

Der Verbrauch an Serum und Testzellen war bei der früheren C'-Fixations-Makrotechnik ein großer Nachteil gegenüber den Leukozytenmethoden. Durch die Einführung der Mikromethode entspricht der Materialverbrauch nun dem der anderen Methoden.

Der größte Vorteil der MKBR mit Plättchen liegt in der langen Haltbarkeit der Plättchen, die im Versuch nicht mehr lebend sein müssen. Hierdurch ist auch ein Versand an andere Laboratorien möglich. Über diese Zusammenarbeit kann eine größere Übereinstimmung und Zuverlässigkeit der Typisierungsergebnisse erreicht werden.

ANALYSE DER ERGEBNISSE

1. Spezifität und Häufigkeit

Wir kennen zahlreiche Untersuchungen über die Häufigkeit von C'-fixierenden thrombozytären Antikörpern (C' F-Antikörper) bei Schwangeren. SVEJGAARD (53) fand 2 % C' F-Antikörper bei nichttransfunden Frauen mit drei oder mehreren Schwangerschaften und in einer ähnlichen Gruppe von Frauen, die aber Transfusionen erhalten hatten, eine Häufigkeit von 5 %. ASTER (4) und DAUSSET (19) fanden 9 % C' F-Antikörper in den Seren von Patienten, die drei oder mehr Bluttransfusionen erhalten hatten, SHULMAN (47) gibt sogar 22 % solcher Antikörper an.

Wir fanden 3,92 % (21 Patienten) C' F-Antikörper bei 536 Patienten (siehe dazu Abbildung 4), die drei oder mehr Bluttransfusionen erhalten hatten. Unsere vergleichsweise niedrigeren Zahlen mögen darin begründet sein, daß wir nur starke positive Reaktionen, die auch mehrmals reproduzierbar waren, werteten und schwächere Antikörper somit nicht erfassten. Die parallel laufende Untersuchung unseres Patientengutes mit der Lymphozytotoxizitätsmethode ergab eine Frequenz von 7,06 % zytotoxischen Antikörpern (49), eine Zahl, die auch unter den Angaben in der Literatur liegt.

Auch die Methoden der Serenauswahl sind hierfür verantwortlich. Wir erfassten alle polytransfunden Patienten unserer Blutbank ohne Berücksichtigung der verschiedenen Immunisierungschancen.

Bekannt ist, daß Antikörper, die durch eine Schwangerschaft hervorgerufen werden, noch mehrere Jahre nach der Sensibilisierung nachweisbar sind, während dagegen transfusionsinduzierte nur eine kurze Zeit in vivo vorhanden sind (42).

Eine kombinierte Stimulation durch Schwangerschaft und Bluttransfusion hat die zeitlich längste Bildung von Antikörpern zur Folge (53), die Titer der Schwangerschaftsantikörper sind jedoch deutlich niedriger. Da wir in unserer Untersuchung nur starke Antikörper erfassen wollten, ist es denkbar, daß eventuell noch vorhandene Schwangerschaftsantikörper bei polytransfunden Patienten übersehen wurden. Es ist möglich, daß die von uns ermittelte Antikörperfrequenz aus diesem Grunde von früheren Untersuchungen abweicht.

Die Gründe für die größere Häufigkeit und die oft gezeigten höheren Titer C' F-Antikörper in Seren polytransfundierter Patienten im Gegensatz zu nichttransfunden Schwangeren sind leicht herzuleiten: Viele transfundierte Patienten waren einmal schwanger; viele Patienten erhalten mehr als zehn Transfusionen, wogegen nur wenige Frauen diese Zahl an Schwangerschaften überschreiten. Da es sich bei der Bluttransfusion um nicht verwandte Spender-Empfängerpaare handelt und außerdem im Gegensatz zur Schwangerschaft der diploide Chromosomensatz angeboten wird, ist die Wahrscheinlichkeit, daß die Antigene nicht übereinstimmen größer als bei einer Gravidität.

Es resultieren bei polytransfunden Patienten meist polyspezifische Antikörper. Diese Gruppe kann daher nicht als Quelle für HL-A-Typisierungsseren herangezogen werden. Antiseren von Schwangeren geben wohl schwächere Reaktionen, können aber in Elutionen angereichert werden und eignen sich besser zur Herstellung der Typisierungsseren.

Wir fanden 33 % monospezifische C' F-Antikörper. Dieser sehr hohe Anteil ist auf die geringere Empfindlichkeit unserer Methode gegenüber der Zytotoxizität zurückzuführen.

COLOMBANI (13) untersuchte 1968 die Stärke der verschiedenen HL-A-Antigene und konnte folgende Reihenfolge feststellen:

HL-A 2, 1, 5, 9, 7 gefolgt von der schwächeren Gruppe HL-A 12, 3 und W28.

KISSMEYER-NIELSEN (30) stellt eine stark antigene Gruppe (HL-A 2, 1, 9, 5, 12 und W10) einer schwächeren (HL-A 3, 11, 7, 8, W19 und W27) gegenüber.

BATCHELOR UND CHAPMAN (7) definieren HL-A 2 gefolgt von HL-A 9 als die stärksten Antigene. Eine hohe Antigenität bedingt wahrscheinlich eine häufigere Antikörperbildung.

Wir fanden elfmal Anti-HL-A 2, sechsmal Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 7, gefolgt von Anti-HL-A 5, 3 und 9 und können die oben genannten Ergebnisse auf diese Weise bestätigen. Siehe dazu Tabelle XXVI.

Bei den Patienten mit Transfusionsreaktionen fand sich in keinem Fall ein monospezifischer Antikörper. Eine Häufung bestimmter Spezifitäten war nicht festzustellen. Auffällig war, daß von neun Seren, in denen kreuzreagierende Antikörper vorlagen, sieben Seren Patienten mit Transfusionsreaktionen zuzuordnen waren (siehe Tabelle XXI). Da wir mit unserer Methode aber Kreuzreaktionen nicht in allen Fällen aufdecken können, läßt sich dieses Ergebnis nicht weiter interpretieren.

Die geringste Antikörperfrequenz fanden wir in der Altersgruppe "61 - 70 Jahre", fast die doppelte Zahl positiver Patienten in der Gruppe "31 - 40 Jahre" (siehe dazu auch Abbildung 6). Die Verteilung von 19 weiblichen und acht männlichen positiven Patienten ist sicher auf eine Immunisierung der meisten weiblichen Patienten durch Schwangerschaften zurückzuführen. Eine Häufung bestimmter Spezifitäten war in diesen beiden Gruppen nicht feststellbar.

Ordnet man die polytransfundierte Patienten nach der Anzahl der Bluttransfusionen, die sie erhalten haben, so findet man die meisten Positiven in der Gruppe "16 - 20 Transfusionen" (siehe dazu Abbildung 7). In die Gruppen mit mehr als 20 Transfusionen gehen weniger positive Patienten ein, da hier statt Vollblut mehr Blutfraktionen wie Erythrozytenkonzentrat oder gewaschene Erythrozyten gegeben wurden.

Da wir Anzahl und Art der Transfusionen, die ein Patient erhalten hatte, nur im Untersuchungszeitraum registrieren konnten, ist es nicht möglich mit genauen Zahlen anzugeben, wieviel Bluttransfusionen notwendig sind, um eine Immunisierung gegen Thrombozytenantigene anzuregen.

2. Kreuzreagierende C' F-thrombozytäre Antikörper

Bei der Untersuchung kreuzreagierender Antikörper im ABO-System gab KABAT (26) eine heute allgemein anerkannte Erklärung solcher Antikörper. Zwei antigene Spezifitäten haben eine Struktur gemeinsam, an die der kreuzreagierende Antikörper gebunden wird. Verschiedene, miteinander verkettete Antikörpermoleküle sollen hier keine Rolle spielen.

Kreuzreaktion scheint auch ein gemeinsames Merkmal der HL-A-Antikörper zu sein, wie es zuerst von SVEJGAARD und KISS-MEYER-NIELSEN (51) beschrieben worden ist.

Sie fanden eine solche Beziehung zwischen den HL-A-Antigenen HL-A 2 und W28.

In der Folgezeit wurden Kreuzreaktionen zwischen HL-A 3 und HL-A 11, HL-A1 und HL-A3, HL-A5 und W5, HL-A 7 und W10, HL-A 10 und W19, HL-A 13 und W 27, HL-A 8 und W 14 bewiesen.

Man fand schließlich Gruppen verschiedener HL-A-Antigene, gegen die kreuzreagierende Antikörper gebildet werden:

HL-A 1, 3 und 11; HL-A 5, W5 und W 17; HL-A 7, W22 und W27. (18) Bekannt ist weiterhin, daß Antiseren, die gegen kreuzreagierende HL-A-Antigene gerichtet sind entweder nur monospezifische Antikörper enthalten oder nur kreuzreagierende oder sogar ein Gemisch aus monospezifischen und kreuzreagierenden Antikörpern (30). Den ersten der oben genannten Fälle fanden wir bei den Seren PT 3, PT 4 und PT 6, die alle Anti-HL-A 2 enthielten. In Absorptionen mit der Zelle W 28 konnten wir in keinem Fall einen solchen kreuzreagierenden Antikörper nachweisen. Siehe dazu auch die Tabellen V, VI und VIII.

Dieses Ergebnis mag darauf zurückzuführen sein, daß kreuzreagierende Antikörper sehr verschiedene Titer gegen die beiden kreuzreagierenden Antigene haben können (51). Ein solches Serum reagiert also nur mit den Plättchen, die eines der Antigene tragen. Verschwindet der Antikörper trotzdem durch eine Absorption mit Zellen, die das andere Antigen tragen, kann man diese Zellen "Reaktion-negative, Absorption-positive" nennen (51).

Diese Erscheinung steht in Analogie zu VAN ROODS "ANAP-Phänomen" (agglutination-negative, absorption-positive), welches andeutet, daß die Leukozyten mancher Individuen, obwohl sie durch ein passendes Antiserum nicht agglutiniert werden können, trotzdem alle agglutinierenden Aktivitäten absorbieren können (41). Ein ähnliches Phänomen (CYNAP) ist mit zytotoxischen Antikörpern beobachtet worden (21). Wir versuchten ein solches Verhalten auch bei C' F-Antikörpern aufzudecken.

Serum PT 9 war in der Suchreaktion mit Plättchen negativ. Ein positives Ergebnis in der Zytotoxizität veranlasste uns zu einem Absorptionsversuch. Im Eluat zeigte sich Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11 kreuzreagierend (siehe Tabelle XI).

Solche Reaktionsweisen, wie auch das gezeigte "C'-fix-negativ, Absorption-positiv"-Phänomen mögen auf kreuzreagierende Antikörper zurückzuführen sein. Die Reaktion mit einem oder einigen der Antigene scheint zu schwach zu sein für eine Aufdeckung in der C'-Fixation; durch die Absorption werden die Antikörper dann aufgetrennt und angereichert. Eine andere Erklärung kann durch die Antikomplementarität eines Antiserums gegeben werden (21).

Die Seren PT 1, PT 2 und PT 9 enthielten ein Gemisch aus monospezifischen und kreuzreagierenden Antikörpern. Bei Serum PT 2 fanden wir Anti-HL-A 3 und Anti-HL-A 1 kreuzreagierend, zusätzlich ein monospezifisches Anti-HL-A 7 (siehe Tabelle IV). Im Serum PT 9 war Anti-HL-A 1 und 11 kreuzreagierend, sowie Anti-HL-A 1 monospezifisch enthalten (siehe Tabelle XI). Dieses monospezifische Anti-HL-A 1 kann ebenso wie die kreuzreagierenden Antikörper durch Immunisierung mit nur einem der Antigene gebildet werden (30).

Durch "gezielte Immunisierung" (Schwangerschaft, Leukozyteninjektion) ist auch schon gezeigt worden, daß ein Antikörper im Empfänger gebildet werden kann, dessen korrespondierendes Antigen dem Spender fehlt.

Nicht sicher beweisen konnten wir eine Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 2 und Anti-HL-A 9 im Serum TZ 5 (siehe hierzu auch Tabelle XVII). Mit den Seren TZ 2, TZ 3 und TZ 6 (Tabellen XIV, XV und XVIII) konnten wir die bekannten Kreuzreaktionen zwischen Anti-HL-A 1, 3 und 11, sowie zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W 27 bestätigen.

Bei den Seren TZ 3 und TZ 6 zeigte sich wiederum eine Kombination der kreuzreagierenden Antikörper mit einem bzw. zwei monospezifischen Antikörpern. Serum TZ 2 enthielt zwei Gruppen kreuzreagierender Antikörper (siehe Tabelle XIV). Die Komplexe Anti-HL-A 1+11+ (3) und Anti-HL-A 1+3+10+11 waren getrennt voneinander nachweisbar. Hier liegt die Annahme "verketteter" Antikörpermoleküle nahe, doch das Ergebnis mit der Absorptionszelle (1, -/13, W10), der einzigen positiven Zelle mit einem vielleicht homozygoten HL-A 1 Antigen, könnte auf verschiedene antigene Strukturen der homozygoten und heterozygoten HL-A 1-Antigene schließen lassen.

Bisher nicht beschriebene kreuzreagierende Antikörper wiesen wir in den Seren PT 7 (Tabelle IX) und PT 8 (Tabelle X) nach. Anti-HL-A 13 und Anti-W10 traten getrennt neben Anti-HL-A 13, Anti-W10 und Anti-W15 auf. Der größere kreuzreagierende Komplex wurde nur von den W15-Zellen herausabsorbiert. Da der Komplex Anti-HL-A 13 und Anti-W10 in einer Absorption mit der Zelle (1, 9/7, W17) herausabsorbiert wurde, könnte man vermuten, daß Anti-HL-A 13 und Anti-W10 noch eine weitere Antikörperkomponente besitzen und Anti-W15 nur monospezifisch vorliegt.

Die kreuzreagierenden Antikörper Anti-W15 und Anti-W17 im Serum PT 7 ebenso wie die kreuzreagierenden Antikörper in dem äußerst polyspezifischen Serum PT 10 könnte man auch durch das Phänomen der "broad antisera and antigens" (30) erklären. Die sogenannten "breiten Antigene" umfassen zwei oder mehrere antigene Determinanten und "breite Antiseren" sind durch Absorptionen nicht zu trennen.

Man kennt als "breite" Antigene W19, W5, W10, W15 und W17. KISSMEYER-NIELSEN (30) vermutet auch Beziehungen zu den vorher genannten Kreuzreaktionsgruppen (z. B. HL-A 5, W5, W17). Somit wäre die Kreuzreaktion im Serum PT 7 auch unter diesem Aspekt zu betrachten. Wir mußten den hier vorkommenden Antikörper W17 aber als schmaler bezeichnen, da er nicht mit allen HL-A 5 Zellen reagierte.

Serum PT 10, ein äußerst polyspezifisches Antiserum, enthielt Anti-W17, Anti-HL-A 5 und Anti-W15, weiterhin Anti-HL-A 2, Anti-HL-A 9 und Anti-HL-A 13 (siehe dazu Tabelle XII). Die drei ersten und stärksten Spezifitäten sind als breiter Antikörperkomplex zu werten. Das sicher bewiesene Anti-HL-A 13 könnte in einer Kreuzreaktion mit Anti-W 27 vorliegen, die wir aufgrund eines zu schwachen Titers übersehen haben. Geht man zusätzlich von einer möglichen Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 9 und Anti-HL-A 2 aus, wie wir sie im Serum TZ 5 bewiesen haben, kann man die Reaktionen mit fast allen Zellen des Testpanels und das Versagen der Absorptionsversuche zur Auftrennung der Antikörper erklären.

Fraglich bleibt das Vorliegen von Anti-W14, da diese Spezifität in der C'-Fixation mit Plättchen bisher noch nicht gezeigt worden ist und das Antigen W 14 in unserem Testpanel nur dreimal vorhanden war.

3. Die klinische Bedeutung

3.1 Transplantation und Plättchen

COLOMBANI (11) fand Plättchenantikörper nach Hauttransplantationen. Man konnte zeigen, daß Blutplättchen und Haut gemeinsame Antigene tragen, die für eine Transplantation von Bedeutung sind. In zahlreichen Untersuchungen (41, 46) wurde bewiesen, daß es sich um die gleichen HL-A-Antigene handelt wie sie auch auf Leukozyten vorhanden sind. Eine HL-A-Typisierung mit Plättchen ist hiermit möglich geworden.

Eine Beziehung zwischen der Kompatibilität im HL-A-System und klinischen Erfolgen bei der Nierentransplantation wurde 1965 von TERASAKI und seinen Mitarbeitern (56) gezeigt. 1969 bezweifelte WALFORD (59) die Wichtigkeit der HL-A-Antigene bei der Nierentransplantation.

In einem Fall jedoch hat das HL-A-System seine Bedeutung behalten: Wenn der Empfänger schon vor der Transplantation Antikörper gegen HL-A-Antigene des Spenders besitzt, wird das Transplantat in einer hyperakuten Reaktion abgestoßen (27).

Bei dieser Abstoßungsreaktion spielen auch Plättchen eine Rolle. Infolge der Antigen-Antikörperreaktion kommt es zur Aggregation der Plättchen und zur Freisetzung von Serotonin. Wahrscheinlich verstopfen diese Aggregate die Kapillaren der Nierenglomerula (68).

Eine Sensibilisierung gegen HL-A-Antigene sollte also bei Patienten, die zur Nierentransplantation vorgesehen sind, unbedingt vermieden werden. Die Gefahrenquellen liegen vor allem in der präoperativen Phase, in der die Patienten im Programm der

chronischen Hämodialyse oft transfundiert werden. Vorausgegangene Schwangerschaften und Nierentransplantationen sind weitere Ursachen. Vorhandene HL-A-Antikörper erschweren auch die Suche nach einem kompatiblen Spender.

In unserer Untersuchung konnten wir 19 Patienten aus dem chronischen Hämodialyseprogramm verfolgen. 14 Patienten hatten neben Erythrozytenkonzentrat und gewaschenen Erythrozyten bis zu 15 Vollblutkonserven erhalten. Einer dieser Patienten (Fall PT 9, G. D.) entwickelte einen thrombozytären und leukozytären HL-A-Antikörper. Bei fünf Patienten, die kein Vollblut, aber auch Erythrozytenkonzentrat erhalten hatten, konnten wir in einem Fall (Fall PT 15, U. L.) HL-A-Antikörper nachweisen.

Bluttransfusionen sollten daher auf ein Minimum beschränkt werden und nur aus gewaschenen Erythrozyten bestehen. Die beste Lösung wäre sicher die Transfusion von HL-A-kompatiblen Blut.

3.2 Bluttransfusion und Transfusionsreaktionen

Die febrile Transfusionsreaktion ist nach THULSTRUP (55) und KISS-MEYER-NIELSEN (30) die häufigste Komplikation. Sie ist gekennzeichnet durch einen Temperaturanstieg etwa eine Stunde nach der Transfusion, oft gefolgt von Schüttelfrost und Rückenschmerzen. Sie erreicht ihren Höhepunkt nach vier Stunden und geht nach etwa acht Stunden wieder zurück (30). Eine Zusammenstellung unserer Patienten mit Transfusionsreaktionen und HL-A-Antikörpern in Tabelle XXV zeigt den Zeitpunkt des Reaktionseintritts zwischen zehn Minuten und sechs Stunden.

Wir fanden 65,4 % febriler Reaktionen (siehe dazu Tabelle XXIV) und stimmen so mit THULSTRUPS Angaben (68,4 %) überein.

Als auslösende Ursache für die febrilen Reaktionen wurden Leukozytenantikörper angesehen, die man später als HL-A-spezifische erkannte. Sie spielen die größte Rolle bei der "major leukocyte incompatibility" (30), bei der im Empfängerserum vorhandene Antikörper mit den Antigenen der Blutkonserve reagieren. Doch auch die "minor leukocyte incompatibility", die Reaktion von Spenderantikörpern mit den Antigenen des Empfängers, kann eine Transfusionsreaktion verursachen. (1). Die Angaben über Leukoagglutinine im Serum von Patienten mit febriler Transfusionsreaktion liegen zwischen 41,2 % (55), 44 % (1) und 5-65 % (59). ENGELFRIET (20) behauptete, daß Lymphozyten allein eine febrile Reaktion auslösen könnten und PERKINS und PAYNE (38) bestätigten ihn durch einen Versuch mit Granulozyten-armem Blut, in dem die Lymphozyten belassen waren. Obwohl THULSTRUP (55) mehr lymphozytotoxische (54 %) als leukoagglutinierende Antikörper (48,9 %) fand, mißt er doch den Leukoagglutininen die größere Bedeutung bei.

Daß thrombozytäre C' F-Antikörper bei der febrilen Transfusionsreaktion beteiligt sind, wurde von SHULMAN (46, 47) und von VAN DER WEERDT (60) gezeigt. SHULMAN ermittelte bei 18 Patienten mit febrilen Reaktionen 44 % C' F-Antikörper. THULSTRUP fand 23 % und wir erkannten 29 % C' F-Antikörper bei solchen Patienten. In THULSTRUPS Material waren nur bei einem Patienten thrombozytäre C' F-Antikörper die alleinige Ursache der febrilen Reaktion. Unsere positiven Patienten zeigten alle auch lymphozytotoxische Antikörper (49) und es war uns daher nicht möglich, thrombozytäre Antikörper als alleinige Ursache für eine febrile Reaktion aufzuzeigen.

In einem Fall (Fall TZ 11 = PT 7, O. R.) fanden wir HL-A-Antikörper bei hämolytischen Transfusionsreaktionen. Die Diagnose einer immunhämolytischen Anämie und die eindeutige Transfusionsanamnese (siehe dazu Kasuistiken Fall PT 7) verbietet hier die pathogenetische Wertung der HL-A-Antikörper.

Nicht in allen Fällen mit febriler Transfusionsreaktion konnten wir thrombozytäre HL-A-Antikörper aufdecken. Das mag darin begründet sein, daß noch nicht alle HL-A-Antikörper entdeckt oder mit unserer Methode nicht nachzuweisen sind. Inkomplette leukozytäre Antikörper werden mit den Methoden der Leukoagglutination oder der Lymphozytotoxizität ebenfalls nicht aufgedeckt. Auch mag die "minor incompatibility" eine Rolle spielen (37). Schließlich ist an eine Inkompatibilität gegenüber gewissen Plasmaproteinen (55) oder an Pyrogene und bakterielle Verunreinigungen zu denken, die auch febrile Reaktionen auslösen können.

Die unterschiedlichen Angaben über die Häufigkeit leukozytärer und thrombozytärer HL-A-Antikörper bei Patienten mit Transfusionsreaktionen sind zu erklären durch die verschiedenen Methoden der Patientenauswahl, den Zeitpunkt der Serumabnahme, die abweichenden serologischen Techniken und durch die Zahl der verwandten Panelplättchen.

PAYNE (37) definierte eine febrile Reaktion mit einem Temperaturanstieg über ein Grad Celsius, THULSTRUP (55) sah schon einen Temperaturanstieg über 0.4 Grad Celsius als febril an. PERKINS (38) forderte die Serumabnahme vor der Transfusionsreaktion, da er ein zeitweiliges Verschwinden des Antikörpers während der Transfusion mit HL-A-inkompatiblen Blut beobachtet hatte. THULSTRUP gewann das Serum am Tage der Transfusionsreaktion und eine zweite Probe acht Tage später.

Wir untersuchten zwei Blutproben, von denen die eine vor der Transfusion und die andere etwa einen Tag danach abgenommen worden war und konnten hier übereinstimmende Ergebnisse feststellen. Wir definierten die febrile Reaktion als einen Temperaturanstieg auf 38 Grad Celsius von der Normaltemperatur aus. Auch ein starker Temperaturanstieg aus sonst nicht erklärbarem Grund bei Patienten, die schon Fieber hatten und eine Transfusion erhielten, galt als Transfusionsreaktion.

AHRONS und KISSMEYER-NIELSEN (1) verwandten in der Untersuchung auf Leukoagglutinine nur zwei bis vier Panelzellen, THULSTRUP (55) arbeitete mit zwölf Zellen und versuchte in wenigen Fällen ausgesuchte Blutspender, deren Blut die Transfusionsreaktion verursacht hatte, in das Panel aufzunehmen. Wir konnten die Seren gegen 19 Zellen in der Suchreaktion testen und die Eluate gegen 38 bis 43 Zellen auswerten.

Wie aus Tabelle XXII hervorgeht, konnten wir bei elf näher untersuchten Patienten mit febriler Transfusionsreaktion eine Häufung bestimmter HL-A-Antikörperspezifitäten nicht feststellen. Eine Immunisierung dieser Patienten ist möglich durch vorausgegangene Transfusionen, Schwangerschaften oder Transplantationen. Unter den 14 positiven Patienten waren zehn weibliche Patienten, von denen in acht Fällen vorausgegangene Schwangerschaften bekannt sind (siehe dazu Tabelle XXI). Nur drei der weiblichen Patienten hatten schon früher einmal Bluttransfusionen erhalten.

THULSTRUP (55) beobachtete seine Patienten mit Transfusionsreaktionen auch noch über einen weiteren Zeitraum. Bei den Patienten, die weiterhin Transfusionen erhielten, kam es in 55 % der Fälle zu erneuten Transfusionsreaktionen, bei primär febriler Transfusionsreaktion sogar in 62 %.

In unserem Patientengut zeigten 36 % der febrilen Transfusionszwischenfälle mit C' F-Antikörpern erneute Reaktionen. Bei Patienten mit wiederholten Transfusionsreaktionen stellte THULSTRUP eine höhere Frequenz thrombozytärer und leukozytärer HL-A-Antikörper fest.

Die Folgerung daraus ist, daß bei einem Patienten, der eine Transfusionsreaktion gezeigt hat, ein erneuter Kontakt mit inkompatiblem Blut vermieden werden sollte. Eine Möglichkeit wäre die Transfusion von HL-A-kompatiblen Blut. Hierzu müßte eine große Anzahl HL-A-typisierter Blutspender zur Verfügung stehen und die Antikörperspezifität des Patienten ausreichend geklärt sein. Jedoch scheint diese Maßnahme nicht durchführbar, da einmal transfusionsinduzierte Antikörper meist polyspezifisch sind und zum anderen die Chance, passende HL-A-kompatible Spender-Empfängerpaare zu finden, sehr gering ist.

Eine weitere Möglichkeit stellt die Gabe von leukozytenarmem Blut dar. Hierzu stehen uns zwei Blutfraktionen zur Verfügung: Erythrozytenkonzentrat, ein durch Zentrifugation gewonnenes "Buffy Coat" armes Blut, in dem noch etwa 20 % der gesamten Leukozyten enthalten sind und gewaschene Erythrozyten, eine Blutfraktion, aus der etwa 95 % der Leukozyten und Plättchen entfernt werden können (10).

Einen Erfolg dieser Therapie konnten wir bei dem Patienten W. A. (Fall PT 1 = TZ 7) feststellen. Durch regelmäßige Transfusionen seit 1968 (siehe dazu Tabelle II) hatte der Patient einen HL-A-spezifischen Antikörper gebildet. 1970 wurden mehrere febrile Transfusionsreaktionen beobachtet. Als daraufhin nur noch gewaschene Erythrozyten transfundiert wurden, war ein deutlicher Rückgang des Antikörpers und eine gute Verträglichkeit der Transfusionen zu registrieren. Beachte hierzu auch Abbildung 2.

3.3 Blut- und Plättchentransfusion

Die wichtigste Indikation für eine Transfusion von Thrombozyten sind die Erkrankungen aus der Gruppe der thrombozytären hämorrhagischen Diathesen.

Blutplättchen haben in vivo eine normale Überlebenszeit von sieben bis zehn Tagen. Misst man die Überlebenszeit der transfundierten Plättchen im Empfängerorganismus, findet man nach einer Frischblutgabe 80 - 90 %, nach der Transfusion von Plättchenkonzentrat ca. 20 % und nach Gabe von plättchenreichem Plasma 40 - 80 % lebende Plättchen.

Dem Vorteil von Frischblut steht der Nachteil der Gabe von großen Volumina entgegen und daher ist die Transfusion von plättchenreichem Plasma die Methode der Wahl. Mit einer Immunisierung gegen die übertragenen Thrombozyten ist aber, abhängig von der Anzahl der Transfusionen und der verwandten Nachweismethode, in jedem Fall mit einer Häufigkeit von 8,7 bis 46,1 % zu rechnen. (44).

Bekannt sind aus der Klinik schon die Schwierigkeiten der Plättchen-substitution bei Patienten mit Plättchenautoantikörpern, wie beim systemischen Lupus erythematoses oder der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura. Aber auch Plättchenisoantikörper spielen bei der Verkürzung der Überlebenszeit von transfundierten Plättchen eine wichtige Rolle (3, 6, 46).

BALDINI (6) zeigte eine verkürzte Überlebenszeit von Cr^{51} -markierten Spenderplättchen in einem Empfänger, der vorher mehrmals Plättchen vom gleichen Spender erhalten hatte.

Die Zerstörung der Plättchen kann sowohl durch HL-A-spezifische als auch durch plättchenspezifische Antikörper bedingt sein (46). ASTER und JANDL (5) zeigten, daß die Zerstörung von HL-A 2 positiven Plättchen nach Injektion von Anti-HL-A 2 Serum deutlich in Abhängigkeit zu der Menge des injizierten Antiserums steht.

Die Frage, wieviele Transfusionen notwendig sind, um eine Immunisierung gegen HL-A-Antigene hervorzurufen, ist schwer zu beantworten. BOSCH (8) fand, daß eine Immunisierung, bewiesen an der verkürzten Überlebenszeit der transfundierten Plättchen, nach mehr als 20 Plättchentransfusionen zu erwarten ist. Diese Zahl erscheint relativ hoch, da fast alle Plättchen HL-A-inkompatibel transfundiert werden. Eine Erklärung könnte sein, daß die meisten der thrombozytopenischen Patienten Steroide erhalten und die Folgen der Immunisierung dadurch verdeckt werden.

Neben der Anzahl und der Art der Transfusionen hängt die Immunisierung auch noch von den Zeitintervallen zwischen den Transfusionen ab. Auch das Antigenmuster des Empfängers, die Frage der Antigenität, geht in die Überlegungen mit ein.

Bei unseren polytransfunden Patienten mit HL-A-Antikörpern waren fünf Patienten, die weniger als zehn Transfusionen erhalten hatten. Da jedoch diese Patienten alle weiblich sind, ist hier die Immunisierung durch eine Schwangerschaft nicht auszuschließen. Siehe hierzu auch die Tabellen XIX und XX. Ebenso verhält es sich bei fünf positiven Frauen mit Transfusionsreaktionen, die weniger als zehn Transfusionen erhalten hatten (siehe Tabelle XXI). Nur der männliche Patient W. D. (Fall TZ 14), der früher niemals Bluttransfusionen erhalten hatte, zeigte einen HL-A-Antikörper nach drei Bluttransfusionen.

Vergleiche auch Tabelle XXI.

Unter den polytransfunden Patienten fanden sich nur zwei männliche (Fall PT 6 und PT 13), die nach zwölf Transfusionen HL-A-Antikörper gebildet hatten (siehe dazu Tabelle XX).

Auch hängt die Immunisierung gegen HL-A-Antigene von der Art des transfunden Blutes ab. Wie Abbildung 8 zeigt, fanden wir in den Patientengruppen, die nur Erythrozytenkonzentrat und/oder nur gewaschene Erythrozyten erhalten hatten, nur zwei Patienten mit thrombozytären HL-A-Antikörpern.

Beide waren Frauen, so daß ein Schwangerschaftsantikörper diskutiert werden kann und erhielten mehr als 14 bzw. 16 Bluttransfusionen.

Eine Immunisierung durch Bluttransfusionen ließe sich durch die Auswahl HL-A-kompatibler Spender ausschalten. Diese Möglichkeit wird jedoch wegen der schon vorher diskutierten Gründe nur schwerlich Anwendung finden.

Sobald HL-A-Antikörper aufgetreten sind, stehen so einer Therapie mit Plättchentransfusionen fast unüberwindbare Hindernisse entgegen, da je nach Antikörperkonzentration die Überlebenszeit frischer Thrombozyten auf wenige Stunden verkürzt und damit der Effekt der Transfusion weitgehend oder völlig aufgehoben wird. (34).

G. Zusammenfassung

1. Mit der Mikrokomplementbindungsreaktion, in Anlehnung an D' AMARO, et al., untersuchten wir 536 polytransfundierte Patienten auf komplementfixierende, thrombozytäre HL-A-spezifische Antikörper. Bei 21 Patienten (3,92 %) konnten in der Suchreaktion solche Antikörper nachgewiesen werden. Bei zehn Fällen gelang es, durch Absorptions- und Elutionsversuche die Spezifität der Antikörper näher zu klären.

Eine deutliche Beziehung zwischen Antikörperfrequenz und Anzahl und Art der Bluttransfusionen konnte aufgezeigt werden.

2. Bei 72 Patienten mit nicht-hämolytischen Transfusionszwischenfällen konnten wir in 14 Fällen (19,4 %) thrombozytäre HL-A-spezifische Antikörper nachweisen. Mit Hilfe von Absorptions- und Elutionsversuchen waren bei elf Patienten die Antikörperspezifitäten zu beweisen.

Unter den 14 Patienten waren zehn Frauen, von denen sieben eine Transfusionsreaktion auf die erste Blutübertragung ihres Lebens gezeigt hatten. Der Verdacht auf foetomaternale Immunisierung lag hier nahe. Wir fanden bei den Transfusionszwischenfällen in 65,4 % febrile Reaktionen und 29 % thrombozytäre HL-A-spezifische Antikörper bei solchen Patienten.

3. Aus dem Material der polytransfundierten Patienten und der Patienten mit Transfusionszwischenfällen war bei 16 Seren durch Absorptions- und Elutionsversuche die Antikörperspezifität näher zu klären. Wir fanden drei monospezifische, acht bispezifische und fünf polyspezifische Antikörper. In einem Fall war, durch zahlreiche Kreuzreaktionen bedingt, eine klare serologische Aufgliederung nicht möglich.
4. Kreuzreaktionen konnten nur zwischen den Antigenen eines Sublocus beobachtet werden und zwar zwischen den Spezifitäten:

Anti-HL-A 1 und 3, Anti-HL-A 1 und 9, Anti-HL-A 1 und 11, zwischen Anti-HL-A 1, 3, 10 und 11, Anti-HL-A 13, W10 und W15, Anti-W15 und W17 und zweimal zwischen Anti-HL-A 7 und W27. Fraglich war eine Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 2 und 9.

5. In den Seren der polytransfundierte Patienten und der Patienten mit Transfusionszwischenfällen fanden wir elfmal Anti-HL-A 2, sechsmal Anti-HL-A 1 und 7, gefolgt von Anti-HL-A 5, 3 und 9.

Eine Häufung bestimmter Spezifitäten war in keiner der beiden Gruppen, ebenfalls nicht bei der Aufschlüsselung der Patienten nach Lebensalter, Geschlecht und Anzahl und Art der erhaltenen Transfusionen festzustellen.

Die höchsten Antikörperfrequenzen fanden wir in der Altersgruppe "31-40" Jahre, in der Gruppe ; "16-20" Transfusionen und bei solchen Patienten, die Vollblutgaben erhalten hatten.

6. In den Seren unseres Patientengutes fanden sich meist polyspezifische Antikörper. Diese Seren sind daher zur Gewinnung von HL-A-Typisierungsseren nicht geeignet. Aus der Kenntnis und dem Nachweis thrombozytärer HL-A-spezifischer Antikörper ergeben sich folgende klinische Konsequenzen:

Patienten, die zu einer Organtransplantation vorgesehen sind und Patienten, die Transfusionsreaktionen gezeigt haben, sollten nur noch Transfusionen von gewaschenen Erythrozyten erhalten.

Bei notwendig werdenden Plättchentransfusionen ist, wie auch in den beiden vorher genannten Fällen, die Transfusion von HL-A-kompatiblen Blut oder solchen Blutfraktionen anzustreben.

Veronalpuffer (p_H 7.4; Ca^{++} - und Mg^{++} -Ionen)	4,0 μ l
Plättchensuspensionen ($300.000/mm^3$)	2,0 μ l
Serum bzw. Serumverdünnung	2,0 μ l
Komplement (verdünnt 1:12 bis 1:14)	2,0 μ l

Inkubation 120 Minuten bei 37 Grad C.

Sensibilisierte Hammelblutkörperchen (ca. $280.000/mm^3$)	2,0 μ l
---	-------------

Inkubation 30 Minuten bei 37 Grad C.

Zentrifugation 3 Minuten bei ca. $600 \times g$

Makroskopische Beurteilung *

* Hämolysen in Stufen von "1" bis "5" eingeteilt.

"1" entspricht maximaler Hämolysen = NEGATIV

"5" entspricht maximaler Hemmung der

Hämolysen = POSITIV

Tabelle I: Die Mikro-Komplement-Bindungs-Reaktion (MKBR)

Zeit		Transfusionsmenge in ml		
		Vollblut	Gewaschene Erythrozyten	Erythrozyten-Konzentrat
September	1968	4000	-	-
November	1968	1500	-	-
August	1969	1500	-	-
November	1969	4000	-	-
Dezember	1969	1500	-	-
Januar	1970	-	-	1000
Februar	1970	-	-	1500
März	1970	-	-	1000
April	1970	-	-	2500
Mai	1970	-	-	3500
August	1970	-	-	1000
September	1970	-	-	2000
Oktober	1970	-	-	1000
Januar	1971	-	2500	-
Februar	1971	-	1000	1000
März	1971	-	-	4500
Gesamt mengen:		12.500	3.500	19.000

Tabelle II: Transfusionsanamnese Fall PT 1 (W.A.)

Fall PT 1 = TZ 7	W.A. 59 Jahre; männlich	HL-A-Phänotyp: (2, 10/W 5/W 17)			
Material *	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 1/V	40	1, 9	20.52	0.71	<0.001
E (9,-/8, W17)	40	9	30.00	0.86	<0.001
E (1,9/W17,-)	40	1, 9	20.52	0.71	<0.001
E (1,2/8, W15)	40	1+9 **	29.14	0.85	<0.001
E (3,9/W5, W15)	40	9	40.00	1.00	<0.001
E (-,-/W27, W17)	40	negativ			
E (9,-/8, W17)	40	9	40.00	1.00	<0.001
E (9,-/8, W21)	186	9	179.76		<0.001

Tabelle III: Ergebnisse mit dem Serum PT 1 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Material: E = Eluat

(.../....) = HL-A-Typisierung der zur Absorption
verwandten Zellen

Anm. ** Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 9

Fall PT 2 = TZ 8	E. L. 76 Jahre; weiblich	HL-A-Phänotyp: (2,11/13, W10)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 2/V1	41	3, 1	21.23	0.71	<0.001
Serum 2/V1	41	7	24.83	0.77	<0.001
E (2,3/W15, W27)	40	3	26.05	0.80	<0.001
E (2,3/7,-)	40	3+1 *	36.13	0.95	<0.001
E (2,3/7,-)	40	7	27.69	0.83	<0.001
E (3,-/7, W15)	40	3+1 *	32.67	0.90	<0.001
E (3,-/7, W15)	40	7	27.69	0.83	<0.001
E (3,-/12, W19)	40	3	35.76	0.94	<0.001
E (1,11/8, W5)	40	3+1 *	29.56	0.85	<0.001
E (1,2/W15, W17)	40	3+1 *	12.67	0.56	<0.001
E (3,-/7,8)	40	3+1 *	29.56	0.85	<0.001
E (3,-/7,8)	40	7	27.69	0.83	<0.001
E (3,10/7, W5)	40	3+1 *	29.56	0.85	<0.001
E (3,10/7, W5)	40	7	27.69	0.83	<0.001
E (3,W28/12, W5)	40	3	40.00	1.00	<0.001
E (3, W28/7,W17)	40	3+1 *	29.56	0.85	<0.001
E (1,3/8,-)	146	3, 1	120.01		<0.001
E (3,-/7,W15)	146	3	135.79		<0.001

Tabelle IV: Ergebnisse mit dem Serum PT 2 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 3 und Anti-HL-A 1

Fall PT 3 J. G. 51 Jahre; weiblich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 3/1	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (1,2/W10, W15)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (W28, -/12, W5)	40	negativ			
E (2,3/5,12)	40	negativ			
E (2, -/W17, -)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (1,2/8, W15)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,3/7, -)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,10/5, 12)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,11/5, 7)	40	2	40.00	1.00	<0.001

Tabelle V: Ergebnisse mit dem Serum PT 3 und dessen Eluat

Fall PT 4 C.L. 34 Jahre; weiblich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 4/VI	40	2	28.57	0.84	<0.001
E (1,2/8, W15)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,3/7, -)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,-/5, 12)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,11/5,7)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (1, 11/8, W5)	40	negativ			
E (W28,-/W14, W27)	40	negativ			
E (-,-/W14,-)	40	negativ			
E (1,2/5,8)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,-/13, W10)	40	2	40.00	1.00	<0.001

Tabelle VI: Ergebnisse mit dem Serum PT 4 und dessen Eluaten

Fall PT 5 = TZ 10 M.E. 68 Jahre; weiblich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 5/11	40	1, 11	40.00	1.00	<0.001
E (1, 2/W5, -)	40	1	30.61	0.87	<0.001
E (9, -/7, W17)	40	negativ			
E (1, 11/8, W5)	40	1	30.61	0.87	<0.001
E (1, 2/5, 8)	40	1	30.61	0.87	<0.001
E (9, -/7, W21)	39	negativ			

Tabelle VII: Ergebnisse mit dem Serum PT 5 und dessen Eluaten

Fall PT 6 N.R. 70 Jahre; männlich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 6/II	40	2	35.60	0.94	<0.001
E (2,-/W17,-)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (W28,-/W27,-)	40	negativ			
E (2,3/W15, W27)	40	2	35.76	0.94	<0.001
E (2, 11/5,7)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (1,2/8, W15)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (2,10/5, 12)	40	2	40.00	1.00	<0.001
E (W28,-/12, W5)	40	negativ			
E (9,-/8, W17)	40	2	35.60	0.94	<0.001

Tabelle VIII: Ergebnisse mit dem Serum PT 6 und dessen Eluaten

Fall PT 7 = TZ 11

O.R. 68 Jahre; männlich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 7/1	48	W15, W17	21.64	0.67	< 0.001
Serum 7/11	40	W15, W17	31.83	0.89	< 0.001
E (-,-/W17, W27)	40	W15+W17 *	31.83	0.89	< 0.001
E (3,9/W5, W15)	40	W15+W17 *	31.83	0.89	< 0.001
E (1,2/8, W15)	40	W15+W17 *	31.83	0.89	< 0.001
E (1,9/W17,-)	40	W15+W17 *	31.83	0.89	< 0.001
E (-,-/W14,-) **	40	W15+W17 *	31.83	0.89	< 0.001
E (1,-/8,-)	40	negativ			
E (W28,-/12, W5)	40	negativ			
E (2,-/W14,-)	40	negativ			

Tabelle IX: Ergebnisse mit dem Serum PT 7 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Kreuzreaktion zwischen Anti-W15 und Anti-W17.

Anm. ** Die nicht vollständig typisierte Zelle trägt

wahrscheinlich das Antigen W15 oder W17.

Fall PT 8

A.E. 51 Jahre; weiblich

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 8/11	nicht untersucht				
E (1, 9/7, W17)	40	13+W10 *	40.00	1.00	< 0.001
E (1, -/13, W10)	40	13+W10 *	34.44	0.92	< 0.001
E (3, -/7, W15)	40	13+W10+W15 **	31.40	0.88	< 0.001
E (2, -/13, W10)	40	13+W10 *	40.00	1.00	< 0.001
E (1, 2/8, W15)	40	13+W10+W15 **	35.76	0.94	< 0.001
E (3, 11/W10, -)	40	13+W10 *	28.47	0.84	< 0.001

- 8 -

Tabelle X: Ergebnisse mit dem Serum PT 8 und dessen Eluten

Legende: Anm. * Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 13 und Anti-W10
 Anm. ** Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 13, Anti-W10
 und Anti-W15.

Fall PT 9	G. D. 52 Jahre; männlich	HL-A-Phänotyp: (2,-/W15,-)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum 9	40	negativ			
E (1,11/8, W5)	40	1, 11	31.83	0.89	< 0.001
E (1,2/W5,-)	40	1	30.00	0.86	< 0.001
E (3, 11/W10,-)	40	1+11 *	31.83	0.89	< 0.001
E (2,-/W15,-)	40	negativ			

Tabelle XI: Ergebnisse mit dem Serum PT 9 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11

Eluat Nr.	HL-A-Phänotyp der zur Absorption ver- wandten Zellen	Positive Reaktionen in der MKBR			Vermutete Antikörperspezifitäten Häufigkeit der positiven Reaktionen mit den Panelzellen (Reihenfolge 1-7): W17, HL-A5, W15, HL-A2, HL-A13, HL-A9, W14								
		N	Absolut %	N % Positive	1	2	3	4	5	6	7		
1	9,-/8, W17	40	24	60.0	31	74.2	1	2	7	5	3	6	4
2	1,2/8, W15	40	35	87.5	31	90.3	4	6	1	2	7	5	3
3	W28,-/W27,-	40	33	82.5	31	90.3	1	2	3	6	4	7	5
4	9,-/7, W17	40	27	67.5	31	74.2	1	2	3	7	5	6	4
5	1,9/W7,-	40	33	82.5	31	93.6	1	2	3	4	5	7	6
6	2,10/7, 12	40	28	70.0	31	84.0	1	5	7	4	2	6	3
7	2, 3/7,-	40	27	67.5	32	75.0	3	4	1	2	5	6	7
8	1, 11/8, W5	40	13	32.5	32	37.5	4	2	1	3	7	5	7
9	1,-/13, W10	40	29	72.5	32	78.1	1	2	3	7	5	6	4
10	11, W28/13, W22	44	34	85.0	32	90.6	1	2	3	7	4	6	5
11	2,-/W17,-	44	35	87.5	32	93.8	1	2	3	4	5	7	6
12	3,-/7,8	44	0	00.0	32	00.0	-	-	-	-	-	-	-
13	W28,-/12, W5	44	25	62.5	32	65.6	3	1	2	5	6	4	7
14	10,-/7,8	44	16	40.0	32	43.8	1	2	7	6	5	3	4
15	2,10/5, 12	44	30	75.0	32	84.4	1	4	6	3	2	5	7
16	1,3/8,-	44	17	42.5	32	56.3	5	3	1	2	7	4	7
17	2,10/7, 12	44	25	62.5	32	71.9	3	1	5	2	6	4	7

Tabelle XII: Ergebnisse mit den Eluaten aus dem Serum PT 10 = TZ 9
 Pat. H. G. 42 Jahre; weiblich HL-A-Phänotyp: (1,-/7,8)

Fall TZ 1 K. H. 71 Jahre; weiblich HL-A-Phänotyp: (11, -/8, 12)

Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum	40	2, 7	40.00	1.00	< 0.001
E (2,3/W15, W27)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (1,2/8, W15)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2,-/W15,-)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (1,2/W15, W17)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (W28,-/W14, W27)	40	negativ			
E (W28,-/W17, W27)	40	negativ			
E (3,-/7,8)	186	7	181.00		< 0.001
E (1,9/7, W17)	40	7	40.00	1.00	< 0.001
E (3,-/7, W15)	40	7	40.00	1.00	< 0.001
E (2,3/W18, 7)	40	2, 7	40.00	1.00	< 0.001

Tabelle XIII: Ergebnisse mit dem Serum TZ 1 und dessen Eluaten

Fall TZ 2	M. H. 57 Jahre; weiblich	HL-A-Phänotyp: (9,-/12, W10)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum	39	1+3+10+11 *	22.48		< 0.001
E (1,2/8, W15)	39	1+3+10+11 *	30.25		< 0.001
E (1,-/13, W10)	39	1+11+(3) **	18.83		< 0.001
E (1,11/8, W5)	39	1+3+10+11 *	26.01		< 0.001
E (1,9/W17, W18)	39	1+3+10+11 *	26.01		< 0.001
Serum (1:6)	19	1	19.00		< 0.001

- 84 -

Tabelle XIV:

Ergebnisse mit dem Serum TZ 2 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Kreuzreaktionen zwischen Anti-HL-A 1, -3, -10+ -11.

Anm. ** Kreuzreaktionen zwischen Anti-HL-A 1 und Anti-HL-A 11.
und wahrscheinlich auch Anti-HL-A 3

- 85 -

Fall TZ 3	A. K. 37 Jahre; weiblich	HL-A-Phänotyp: (3, 11/-, -)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum	38	2, 7+W27 *	30.61		< 0.001
E (2, 3/7, W18)	40	2, 7	40.00	1.00	< 0.001
E (3, -/7, 8)	40	7	40.00	1.00	< 0.001
E (3, -/7, W15)	40	7	40.00	1.00	< 0.001
E (W28, -/W14, W27)	40	7+W27 **	40.00	1.00	< 0.001
E (9, -/8, W17)	40	W17	40.00	1.00	< 0.001
E (1, 9/W17, W18)	40	W17	40.00	1.00	< 0.001
E (W28, -/W17, W27)	40	7+W27, W17 ***	36.17		< 0.001
E (1, 2/8, W15)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2, 3/W15, W27)	38	7+W27, 2 *	38.00	1.00	< 0.001

Tabelle XV:

Ergebnisse mit dem Serum TZ 3 und dessen Eluaten

Legende: Anm. * Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W27.

Zusätzlich ist Anti-HL-A 2 vorhanden.

Anm. ** Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W27.

Anm. *** Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W27.

Zusätzlich ist Anti-W17 vorhanden.

Fall TZ 4	J. G. 74 Jahre; männlich	HL-A-Phänotyp: (2, -/12, W10)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum	39	3, W5	39.00	1.00	<0.001
E (2,3/7, W18)	39	3	39.00	1.00	<0.001
E (3,-/7, W15)	39	3	39.00	1.00	<0.001
E (1,9/W17,W18)	39	negativ			
E (3,W28/12, W5)	39	3, W5	39.00	1.00	<0.001
E (3, 10/7, W5)	39	3, W5	35.10		<0.001
E (1, 11/12, W5)	39	W5	39.00	1.00	<0.001
E (1,2/W5,-)	39	W5	39.00	1.00	<0.001

Tabelle: XVI: Ergebnisse mit dem Serum TZ 4 und dessen Eluaten

Fall TZ 5	K. S. 72 Jahre; weiblich	HL-A-Phänotyp: (3,11/7, W5)			
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2	r	p
Serum	40	2, 9	25.88	0	< 0.001
E (2,-/13, W10)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2,3/W15,W27)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2,10/W14,W18)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2,3/7, W18)	40	2	40.00	1.00	< 0.001
E (2,9/8, W15)	40	2, 9	36.17		< 0.001
E (2,9/13, W17)	40	2, 9	36.17		< 0.001
E (9,-/8, W17)	40	9+(2) *	36.17		< 0.001
E (1,9/W17, W18)	40	9+(2) *	36.17		< 0.001

Tabelle XVII: Ergebnisse mit dem Serum TZ 5 und dessen Eluaten

Lengede: Anm.*Fragliche Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 9
und Anti-HL-A 2.

Fall	TZ 6	E. F. 4o Jahre; weiblich	HL-A-Phänotyp: (1,11/W5,-)
Material	N	HL-A-Antikörper Spezifität	χ^2 r p
Serum	43	7	
E (W28,-/W14,W27)	43	7+W27 *	31.99 < 0.001
E (1,11/8, 12)	43	negativ	39.04 < 0.001
E (2,10/W14,W18)	43	negativ	
E (2,9/W27,-)	43	7	38.74 < 0.001
E (2,3/7, W18)	43	7	43.00 1.00 < 0.001
E (3,-/7, 8)	43	7	43.00 1.00 < 0.001
E (1,9/7, W17)	43	7	43.00 1.00 < 0.001
E (9,-/7, W21)	43	7	43.00 1.00 < 0.001
E (1,11/8,W5)	43	negativ	
E (2,10/5, 12)	43	negativ	43.00 1.00 < 0.001

Tabelle XVIII:

Ergebnisse mit dem Serum TZ 6 und dessen Eluaten

Legende: Anm.* Kreuzreaktion zwischen Anti-HL-A 7 und Anti-W 27.

Fall	Name	Geschlecht	Alter	Blutgruppe	Anzahl der Graviditäten	Klinische Diagnose	HL-A-Phänotyp
PT1	W.A.	männl.	59	O Rh-pos	-	Morbus Osler	2,10/W5, W17
PT2	E.L.	weibl.	76	O-Rh-pos	3	Osteomyelofibrose	2,11/13, W10
PT3	J.G.	weibl.	50	O-Rh-pos	2	Hämolytische Anämie	-
PT4	C.L.	weibl.	35	B Rh-neg	?	Ösophagusvarizenblutung	-
PT5	M.E.	weibl.	68	A Rh-pos	4	Milzvenenthrombose	-
PT6	N.R.	männl.	70	O Rh-pos	-	Prostatakarzinom	-
PT7	O.R.	männl.	68	O-Rh-neg	-	Immunglobulynische Anämie	-
PT8	A.E.	weibl.	50	O Rh-pos	2	Ulcus ventriculi	-
PT9	G.D.	männl.	51	O Rh-pos	-	Chron. Niereninsuffizienz	2,-/W15,-
PT10	H.G.	weibl.	51	A Rh-pos	4	Osteomyelofibrose	1,-/7,8
PT11	I.P.L.	weibl.	38	A Rh-neg	?	-	-
PT12	M.H.	weibl.	44	O Rh-pos	?	-	-
PT13	W.N.	männl.	61	A Rh-pos	-	-	-
PT14	E.R.	weibl.	74	O Rh-pos	?	-	-
PT15	U.L.	weibl.	30	AB Rh-neg	?	-	-
PT16	M.S.	weibl.	45	A Rh-pos	?	-	-
TZ 1	K.H.	weibl.	71	A Rh-pos	2	Rektumkarzinom	11,-/8,12
TZ2	M.H.	weibl.	57	O Rh-pos	2	Ileus	9,-/12, W10
TZ 3	A.K.	weibl.	37	B Rh-pos	3	Postpartale Blutung	3,11/-,-
TZ 4	J.G.	männl.	74	O Rh-pos	-	Prostataadenom	2,-/12, W10
TZ 5	K.S.	weibl.	72	A-Rh-pos	2	Osteomyelofibrose	3,11/7, W5
TZ 6	E.F.	weibl.	40	A-Rh-pos	2	Myeloblasten-Leukämie	1,11/W5,-

Tabelle XIX: Aufstellung der positiven polytransfundierte Patienten und der positiven Patienten mit Transfusionsreaktionen

Anzahl der Transfusionen

Fall	Name	Total	Vollblut	Erythrozyten Konzentrat	gewaschene Erythrozyt.	Frischblut
PT1	W.A.	29	3	10	16	-
PT2	E.L.	31	22	9	-	-
PT3	J.G.	22	16	4	2	-
PT4	C.L.	22	4	18	-	-
PT5	M.E.	10	10	-	-	-
PT6	N.R.	12	7	-	5	-
PT7	O.R.	30	11	19	-	-
PT8	A.E.	9	8	1	-	-
PT9	G.D.	62	4	45	12	-
PT10	H.G.	19	15	4	-	-
PT11	I.P.	>14	-	>6	8	-
PT12	M.H.	5	2	3	-	-
PT13	W.N.	12	10	2	-	-
PT14	E.R.	7	5	2	-	-
PT15	U.L.	>19	-	>11	8	-
PT16	M.S.	19	12	7	-	-
PT17	A.S.	3	3	-	-	-
PT18	G.B.	16	10	6	-	-
PT19	W.R.	9	2	4	3	-
PT20	B.H.	13	7	2	-	4
PT21	H.K.	40	10	21	4	5

Tabelle XX: Transfusionsanamnese der positiven polytransfunden Patienten

Fall	Name	Geschlecht	Graviditäten	Transfusionen Anzahl und Art			Frühere Transfusionen	MKBR	Genauer untersucht
				Total	V	I II			
TZ1	K.H.	weiblich	2	2	2	- -	nein	+	ja
TZ2	M.H.	weiblich	2	6	6	- -	1962	+	ja
TZ3	A.K.	weiblich	3	1	1	- -	nein	+	ja
TZ4	J.G.	männlich	-	23	23	- -	1963+66	+	ja
TZ5	K.S.	weiblich	2	35	29	5 -	1970	+	ja
TZ6	E.F.	weiblich	2	13	1	2 8	nein	+	ja
TZ7	W.A.	männlich	-	29	3	10 16	seit 1968	+	ja
TZ8	E.L.	weiblich	3	31	22	9 -	seit 1967	+	ja
TZ9	H.G.	weiblich	4	19	15	4 -	nein	+	ja
TZ10	M.E.	weiblich	4	10	10	- -	nein	+	ja
TZ11	O.R.	männlich	-	30	11	19 -	nein	+	ja
TZ12	I.K.	weiblich	?	2	2	- -	nein	+	nein
TZ13	G.B.	weiblich	?	8	2	6 -	nein	+	nein
TZ14	W.D.	männlich	-	3	3	- -	nein	+	nein

Tabelle XXI: Transfusionsanamnese der positiven Patienten mit Transfusionszwischenfällen

Fall	Untersuchte Seren		Vorläufige Anti-HL-A		Anzahl der Absorptionen und Elutionen	Endgültige Anti-HL-A		Diagnose
	Anzahl	MKBR +	HL-A-Diagnose in der Suchreaktion	HL-A-Diagnose in der Suchreaktion		Monospezifische AK	Kreuzreagierende AK	
PT1=IZ7	12	9	1, 9	1, 9	7	1, 9		1+9
PT2=IZ8	13	12	1, 3, 7, 9	1, 3, 7, 9	11	1, 3, 7		1+3
PT3	16	6	2	2	8	2		-
PT4	8	7	2, W5	2, W5	9	2		-
PT5=IZ10	2	2	1, 11, 12, 13, W15	1, 11, 12, 13, W15	6	1, (11)		-
PT6	3	3	2	2	8	2		-
PT7=IZ11	3	2	W15, W17	W15, W17	8	-		W15+W17
PT8	2	2	13, W5, W10	13, W5, W10	6	-		13+W10, 13 +W10+W15
PT9	14	0	-	-	4	1		1+11
PT10=IZ9	3	3	polyspezifisch	polyspezifisch	17	2, 5, 9, 13, W15, W17, (W14)		
PT11	3	2	5	5	-	-		-
PT12	1	1	1, 9	1, 9	-	-		-
PT13	1	1	2	2	-	-		-
PT14	1	1	2	2	-	-		-
PT15	4	2	5	5	-	-		-
PT16	6	3	3, 7	3, 7	-	-		-
IZ1	1	1	2, 7	2, 7	-	-		-
IZ2	1	1	1, 3, 10, 11	1, 3, 10, 11	10	2, 7		-
IZ3	1	1	2, 7, W27	2, 7, W27	4	-		1+3+10+11
IZ4	1	1	3, W5	3, W5	9	2, W17		7+W27
IZ5	1	1	2, 9	2, 9	7	3, W5		-
IZ6	1	1	7	7	8	2, 9		(2+9)+?
					10	7		7+W27

Tabelle XXII: Die Ergebnisse mit den Seren der positiven polytransfunden Patienten und der Patienten mit Transfusionsreaktionen.

Alter in Jahren	1-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	Total
weiblich	1	3	7	6	5	7	4	2	35
Männlich	3	5	6	3	6	12	2	0	37
Total	4	8	13	9	11	19	6	2	72

Die Patienten mit Transfusionszwischenfällen
Geschlechts- und Altersverteilung

Tabelle XXIII:

Transfusionsreaktionen:

	Transfusionsreaktionen:			Andere Transfusionsreaktionen:			
	Febrile	Urtikarielle	Andere	Erbrechen	Hämaturie	Dyspnoe u. Kopfschmerz	Urticaria u. Fieber
Anzahl der Patienten	48	14	10	2	3	3	2
Prozent	65,4	19,4	15,2				

Tabelle XXIV: Arten der Reaktionen bei 72 Patienten mit Transfusionszwischenfällen

Fall	Zeitpunkt des Reakt. - Eintritts	Reaktionsarten			
		Febrile Reaktionen	Erbrechen	Hämaturie	Dyspnoe
TZ 1	4 Stunden	+	+	-	-
TZ 2	30 Minuten	+	-	-	-
TZ 3	20 Minuten	+	-	-	-
TZ 4	30 Minuten	+	-	-	-
TZ 5	60 Minuten	+	-	-	-
TZ 6	60 Minuten	+	-	-	-
TZ 7	-	+	-	-	+
TZ 8	-	+	-	-	-
TZ 9	60 Minuten	+	-	-	-
TZ 10	20 Minuten	+	-	-	-
TZ 11	30 Minuten	+	-	+	-
TZ 12	10 Minuten	+	-	-	-
TZ 13	30 Minuten	+	-	-	-
TZ 14	6 Stunden	+	-	-	-

Tabelle XXV: Die Patienten mit Transfusionszwischenfällen
Positive Patienten in der MKBR-Suchreaktion

Spezifität	Anzahl der Antikörper		
	Monospezifische Seren	Polyspezifische Seren	Total
HL-A 1	0	6	6
HL-A 2	5	6	11
HL-A3	0	4	4
HL-A 9	0	4	4
HL_A 10	-	-	-
HL-A 11	0	3	3
W 28	0	1	1
W 19	-	-	-
HL-A 5	2	3	5
HL-A 7	1	5	6
HL-A 8	-	-	-
HL-A 12	-	-	-
HL-A 13	0	2	2
W 5	0	3	3
W 10	0	1	1
W 14	0	(1)	(1)
W 15	1	3	4
W 17	0	3	3
W 22	-	-	-
W 27	0	2	2
Total	9	47	56

Tabelle: XXVI: Erkennbare Antikörperspezifitäten in den Seren von 27 Patienten, die C' F-antithrombozytäre Isoantikörper gebildet hatten.

MIKRO-Komplement-Bindungs-Reaktion

	D'Amaro et al	Colombani et al	Gabb & Bodmer	Smith & Walford	Autor
Serum μ l	0,5	1,0	2,0	2,0	2,0 (1:2)
Plättchen μ l	2,0	1,0	2,0	2,0	2,0
C'-Verdünnung μ l	2,0	6,0	2,0	2,0	2,0
Puffer μ l	4,0	0	0	0	4,0
Inkubation 37°C min.	60	60	60	60	120
SHBK μ l	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Inkubation 37°C min	30	30	30	30	30
Gesamtvolumen μ l	10,5	10,0	8,0	8,0	12,0

Tabelle XXVII Vergleich der Techniken verschiedener Mikro-Komplement-Bindungs-Reaktionen

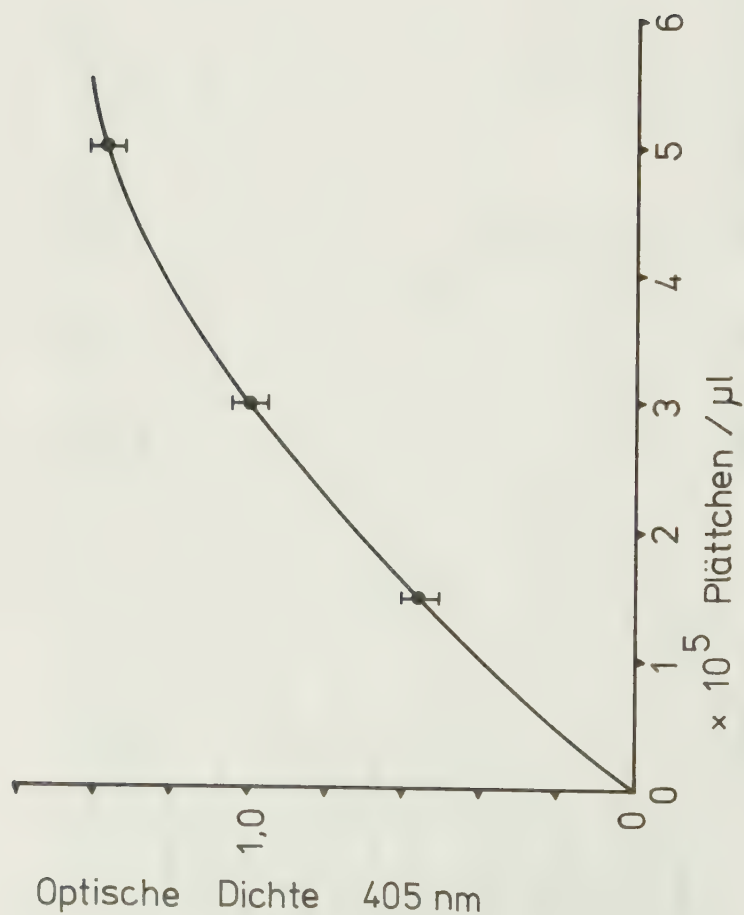


Abbildung 1: Beziehung zwischen der Anzahl gewaschener menschlicher Thrombozyten und der optischen Dichte ihrer Suspensionen.

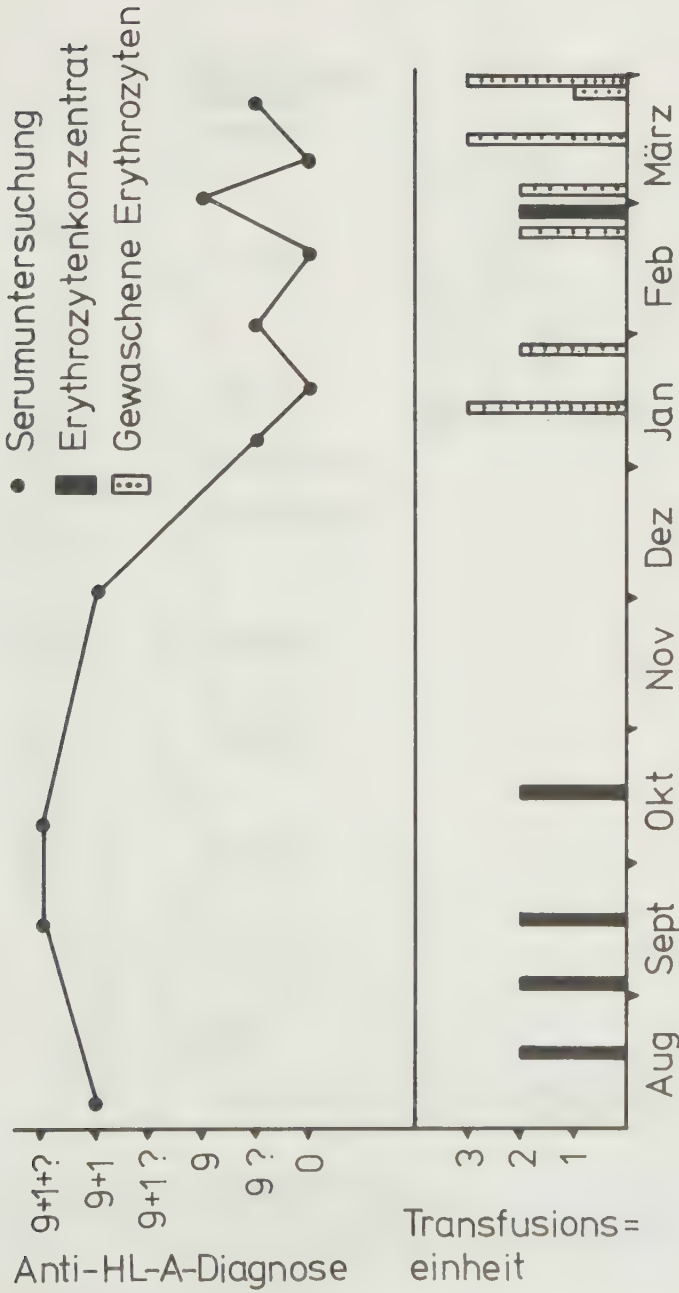


Abbildung 2: Fall PT 1, W.A.

Transfusionen im Zeitraum der Serumuntersuchungen und Anti-HL-A-Diagnosen der untersuchten Seren.

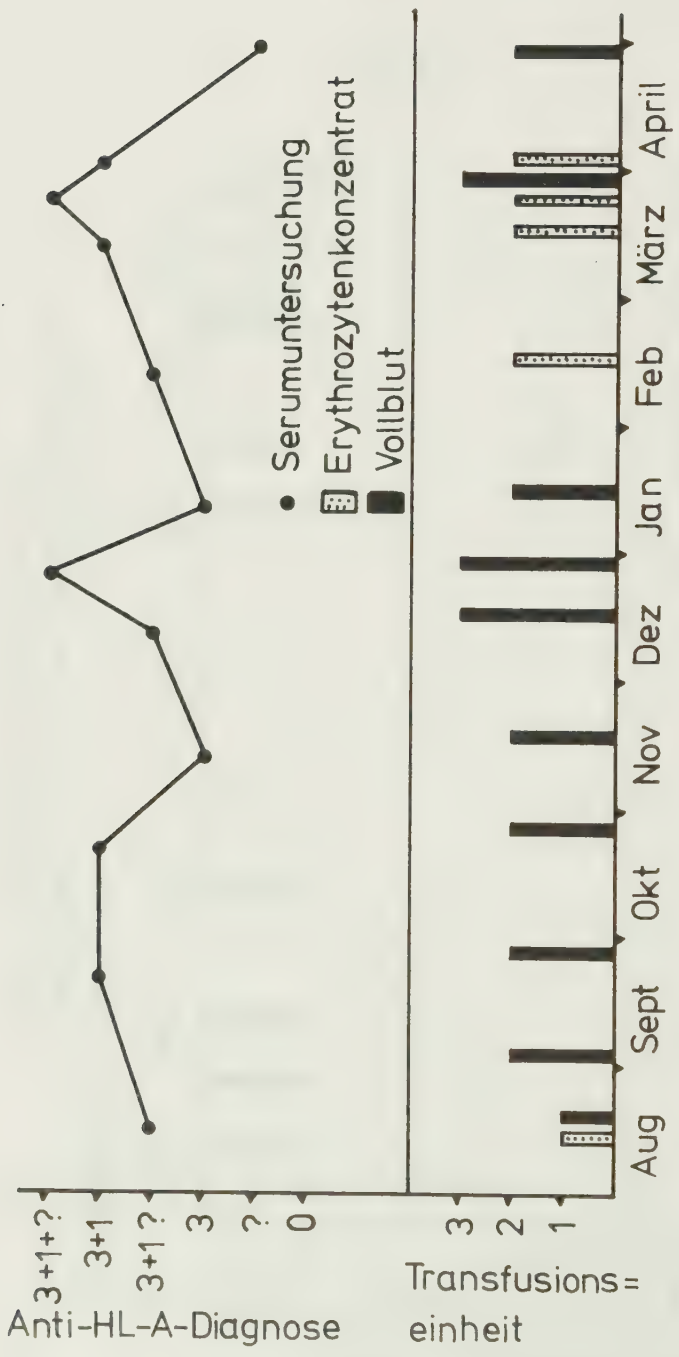


Abbildung 3: Fall PT 2, E.L.
Transfusionen im Zeitraum der Serumuntersuchungen und
Anti-HL-A-Diagnosen der untersuchten Seren.

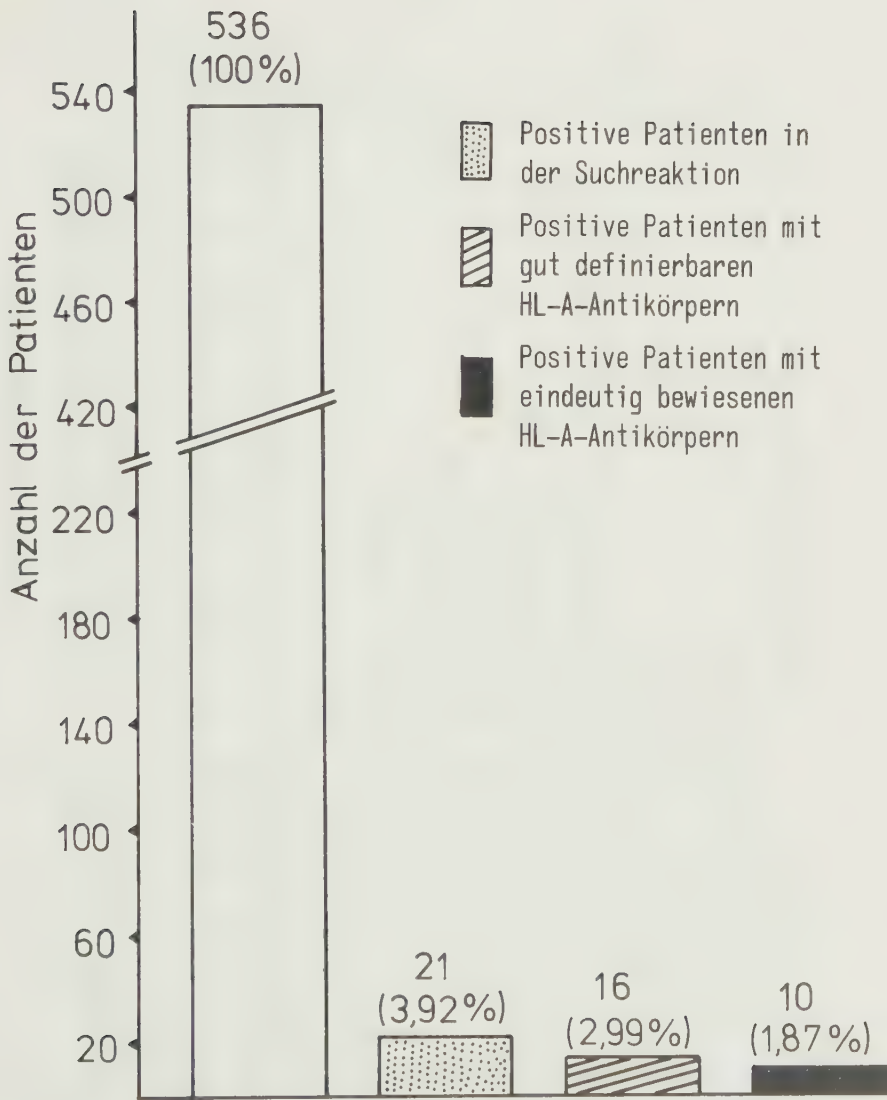


Abbildung 4: Anzahl und Prozentangabe der Patienten mit HL-A-Antikörpern bei 536 polytransfundierten Patienten

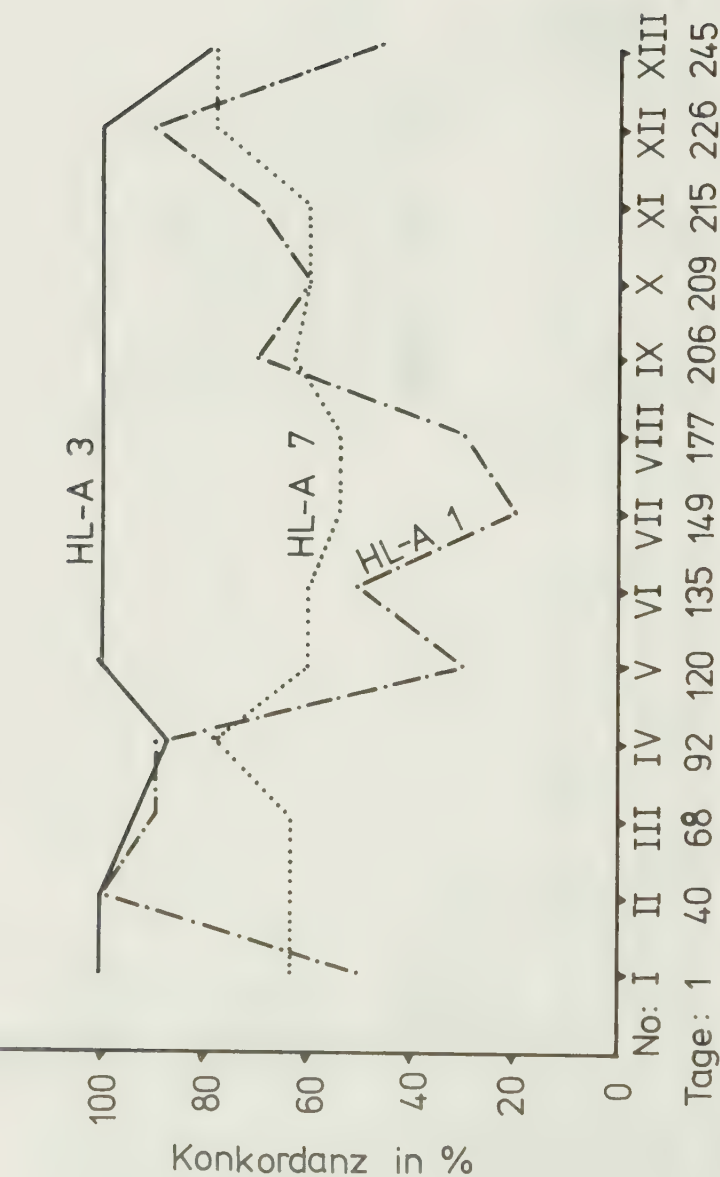


Abbildung 5: Fall PT 2, E.L. - Suchreaktion mit 13 Serumproben.
Die Addition positiver Panelzellen.

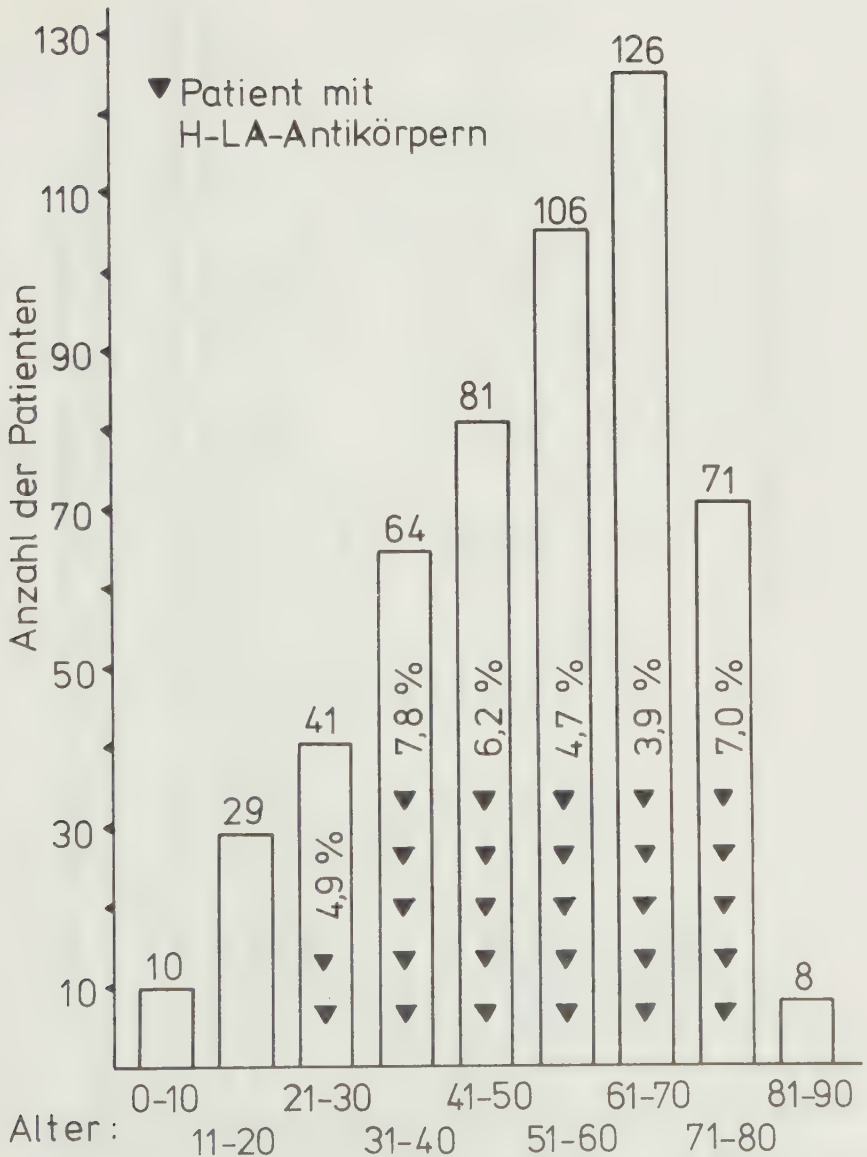


Abbildung 6: Altersgruppierung 536 polytransfundierter Patienten und Anzahl der Patienten mit HL-A-Antikörpern in diesen Gruppen.

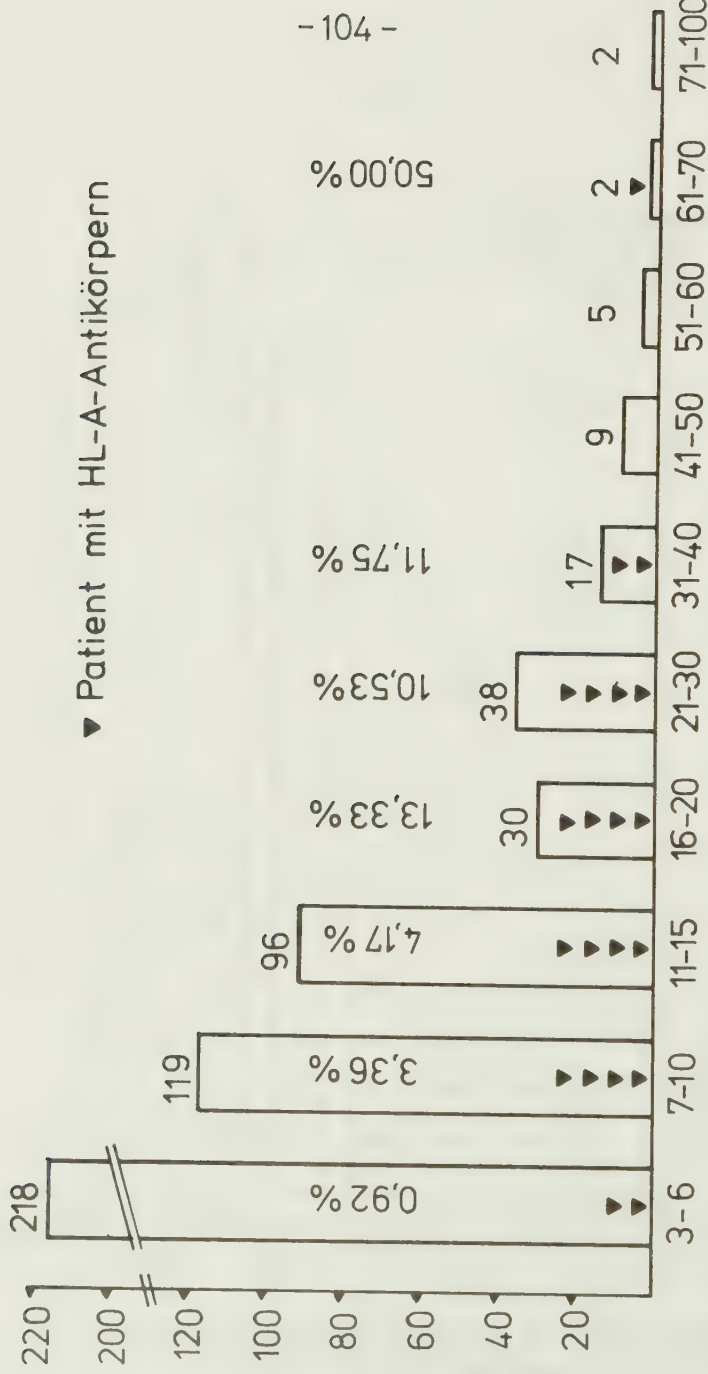


Abbildung 7: Anzahl der Transfusionen bei 536 polytransfunden Patienten und Anzahl der Patienten mit HL-A-Antikörpern in diesen Gruppen.

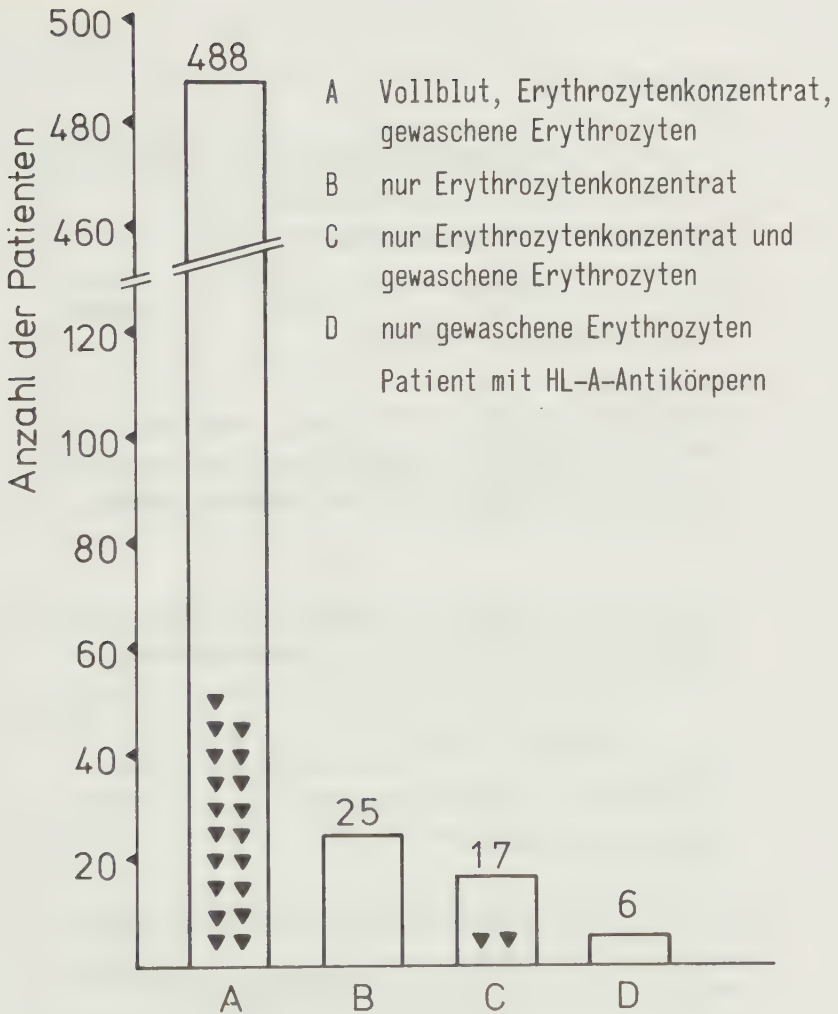


Abbildung 8: Verteilung der Gaben von Vollblut und zwei Blutfraktionaten bei 536 polytransfunden Patienten und Anzahl der Patienten mit HL-A-Antikörpern in diesen Gruppen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AHRONS, S. KISSMEYER-NIELSEN, F.: Serological investigations of 1.358 transfusion reactions in 74.000 transfusions.
Danish med. Bull. 15, 259-262 (1968)
2. ASTER, R. H.; SHULMAN, N. R.; PEARSON, H. A.; HILLER, M. C.: Clin. Res. 9, 157 (1961)
3. ASTER, R.H.; LEVIN, R.H.; COOPER, H.E.; FREIREICH, E. J.; MORSE, E.E.; SINGER, D.L.: Correlation of complement fixing antibodies with platelet survival in thrombocytopenic patients.
Clin. Res. 10, 195 (1962)
4. ASTER, R.H.; COOPER, H. E.; SINGER, D. L.: Simplified complement fixation test for the detection of platelet antibodies in human serum. J. lab. clin. Med. 63, 161 (1964)
5. ASTER, R.H.; JANDL, J. H.: Platelet sequestration in man.
II. Immunological and clinical studies.
J. clin. Invest. 43, 856 (1964)
6. BALDINI, M.; COSTEA, N.; EBBE, S.: Studies of the antigenic structure of blood platelets.
Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat., 378 (1962)
7. BATCHELOR, J. R.; CHAPMAN, B. A.: Absorption analyses of cytotoxic human iso-antisera.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 129, 529-540 (1966)

8. BOSCH, L.J.: Studies on platelet transfusion in man.
Thesis. 1965, J. B. Wolters, Gronongen
9. BRITTINGHAM, T.E.: Immunologic studies on leucocytes.
Vox Sang. 2, 242-248 (1957)
10. CHAPLIN, H.; BRITTINGHAM, T.E.; CASELL, M.: Methods for
preparation of suspensions of buffy coat-poor blood cells for
transfusion.
Amer. J. clin. Path. 31, 373 (1959)
11. COLOMBANI, J.; COLOMBANI, M.; DAUSSET, J.: Leukocyte
antigens and skin homografts in man. Demonstration of humoral
antibodies after homografting by the antiglobulin consumption test.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 120, 307 (1964)
12. COLOMBANI, J.; COLOMBANI, M.; BENAÏM, A.; DAUSSET,
J.: Leucocyte and platelet antigens defined by platelet complement
fixation test.
Histocompat. Testing 1967, 413, Munksgaard, Copenhagen
13. COLOMBANI, J.; COLOMBANI, M.; DAUSSET, J.: Tissue and
leucoplatelet allo-antigens studied by a human complement fixation
test.
Pres. at the XIIth Congr. Intern. Soc. Haemat. 1968, N. Y.
14. COLOMBANI, M.; COLOMBANI, J.; DEHAY, C.; DAUSSET, J.:
A micotechnique of platelet complement fixation. Results obtained
with sera and eluates as the source of antibody.
Histocompat. Testing 1970, 553, Munksgaard, Copenhagen

15. COLOMBANI, J.; D'AMARO, J.; GABB, B.; SMITH, G.;
SVEJGAARD, A.: To be published in: Transplant. Proc.
16. D'AMARO, J.: The micro complement fixation test. I.A. solution of the technical problems of HL-A typing? Vox Sang. 18, 334 (1970)
17. D'AMARO, J.; VAN LEEUWEN, A.; SVEJGAARD, A.; ROOD, J. J. van: The micro complement fixation test. II. Serologic and comparative studies.
Histocompat. Testing 1970, 539 Munksgaard, Copenhagen
18. DAUSSET, J.: Leuco-agglutinins. IV. Leuco-agglutinins and blood transfusion.
Vox Sang. 4, 190 (1954) Basel
19. DAUSSET, J.; TANGUN, Y.: Les iso-anticorps anti-plaquettaires decèles par fixation du complement.
Transfusion 7, 333 (1964) Paris
20. ENGELFRIET, C.P.: Cytotoxic iso-antibodies against leucocytes.
Thesis, Amsterdam (1966)
21. FERRONE, S.; TOSI, R.M.; CENTIS, D.: Anticomplementary factors affecting the lymphocytotoxicity test.
Histocomp. Testing 1967, 357 Munksgaard, Copenhagen
22. GABB, B.W.; BODMER, W.E.: A micro-complement fixation test for platelet antibodies.
Histocomp. Testing 1970, 543 Munksgaard, Copenhagen

23. GOUDSMIT, R.; LOGHEM, J.J. van: Studies on the occurrence of leucocyte-antibodies.
Vox Sang. 3, 58 (1953)
24. HASCHE, E.: Photometrische Thrombozytenzählung
Klin. Wschr. 33, 950 (1955)
25. HEINRICH, D.: MUELLER-ECKHARDT, CH.: Micro Complement Fixation with Platelets. A Methodological Analysis. Vox Sang. 21, 251 (1971)
26. KABAT, E.A.: Blood Group Substances, Their Chemistry and Immunochemistry.
Academic Press 1956, 265 New York
27. KISSMEYER-NIELSEN, F.; OLSEN, S.; PETERSEN, V.P.; FJELDBORG, O.: Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells.
Lancet II, 662 (1966)
28. KISSMEYER-NIELSEN, F.; KJERBYE, K.E.: Lymphocytotoxic micro technique purification of lymphocytes by flotation. Histocomp. Testing 1967, 381 Munksgaard, Copenhagen
29. KISSMEYER-NIELSEN, F.; STAUB-NIELSEN, L.; LINDHOLM, A.; SANDBERG, L.; SVEJGAARD, A.; THORSBY, E.:
The HL-A-system in relation to human transplantations Histocomp. Testing 1970, 105 Munksgaard, Copenhagen

30. KISSMEYER-NIELSEN, F.; THORSBY, E.: Human Transplantation Antigens.
Transplant. Rev. 4, (1970) Munksgaard, Copenhagen
31. LOGHEM, J.J. van; HART, M. VAN DER; HIJMANS, W.; SCHUIT, H.R.E.: The incidence and significance of complete and incomplete white cell antibodies with special reference to the use of the Coombs consumption test.
Vox Sang. 3, 203 (1958)
32. MAYER, M.M.: Complement and complement fixation.
In: Kabat and Mayer - Experimental Immunochemistry, 133, (1961) Thomas, Springfield
33. MORRIS, P. J.; WILLIAMS, G. M.: HUME, D.M.; MICKEY, R.; TERASAKI, P.I.: Serotyping for homotransplantation. XII. Occurrence of cytotoxic antibodies following kidney transplantation in man.
Transplant. 6, 392 (1968)
34. MUELLER-ECKHARDT, CH.; HEINRICH, D.; LASCH, H.G.: Indikation und Transfusion gerinnungsaktiver Blutbestandteile.
Zschr. Prakt. Anästh. 6, 401 (1970) Stuttgart
35. MUELLER-ECKHARDT, CH.; HEINRICH, D.; ESCOLAR, J.; GÖTZE, U.: HL-A-spezifische, C'-fixierende antithrombozytäre Antikörper. I. Antikörperfrequenz und Spezifität im Serum von 500 Schwangeren.
Blut 23, 207 (1971) München

36. PAYNE, R.; ROLFS, M.R.: Foetomaternal leucocyte incompatibility. J. clin. Invest. 37, 1756 (1958)
37. PAYNE, R.; ROLFS, M. R.: Further observations on leuko-agglutinin transfusion reactions.
Amer. J. Med. 29, 449 (1960)
38. PERKINS, H.A.; PAYNE, R.; FERGUSON, J.; WOOD, M.:
Nonhemolytic febrile transfusion reactions. Vox Sang. 11,
578 (1966)
39. PREZ, R.M.; BRYANT, R.E.: Two mechanisms of immunologically-induced injury to rabbit platelets.
J. Immunol. 102, 241 (1969)
40. ROOD, J.J. VAN; EERNISSE, J.G.; LEEUWEN, A. VAN:
Leucocyte antibodies in sera from pregnant women.
Nature 181, 1735 (1958) London
41. ROOD, J.J. VAN: Leucocyte Grouping.
Thesis., Leiden (1962)
42. ROOD, J.J. VAN; EERNISSE, J.G.: The detection of transplantation in leukocytes.
Sem. Haematol. 5, 187 (1968)
43. ROOD, J.J. VAN; LEEUWEN, A. VAN; PEARCE, R.; DOES, J. A. VAN DER: Leucocyte typing and kidney transplantation in unrelated donor-recipient pairs.
Transplant. Proc. 1, 372 (1969)

44. SEIDL, S.: Die Thrombozytentransfusion. Untersuchungen mit radioaktiv markierten Thrombozyten.
Fischer, Stuttgart (1968)
45. SHULMAN, N. R.; ASTER, R.H.; PEARSON, H.A.; HILLER, M.C.: J. clin. Invest. 41, 1059 (1962)
46. SHULMAN, N. R.; MARDER, V.J.; HILLER, M.C.; COLLIER, E.M.: Platelet and leucocyte isoantigens and their antibodies: Serologic, physiologic and clinical studies.
Progr. Haemat. 4, 222 (1964)
47. SHULMAN, N. R.: Immunologic considerations attending platelet transfusion.
Transfusion 6, 39 (1966) Philadelphia
48. SMITH, G.S. ; WALFORD, R. L.: A micro complement fixation method for determining isoantigens of human platelets Histocomp. Testing 1970, 549 Munksgaard, Copenhagen
49. STIER, W.: Untersuchungen über Häufigkeit und Spezifität HL-A-spezifischer, zytotoxischer Antikörper bei polytransfunden Patienten und Patienten mit Transfusionszwischenfällen.
Inaugural-Dissertation, J. Liebig-Universität Gießen 1973
50. SVEJGAARD, A.; KJERBYE, K.E.; KISSMEYER-NIELSEN, F.: The sensitivity of some of the methods used in leukocyte and platelet grouping.
Histocomp. Testing 1967, 385 Munksgaard, Copenhagen

51. SVEJGAARD, A.; KISSMEYER-NIELSEN, F.: Cross-reactive human HL-A isoantibodies.
Nature 219, 868 (1968) London

52. SVEJGAARD, A.; KISSMEYER-NIELSEN, F.: Complement-fixing platelet iso-antibodies. I. A quantitative technique for their detection.
Vox Sang. 14, 106 (1968)

53. SVEJGAARD, A.: Iso-Antigenic system of human blood platelets. Ser. Haematol. Vol. II, 3 (1969) Munksgaard, Copenhagen

54. TERASAKI, P. I.; KREISLER, M.; MICKEY, M.R.; SENGAR, D. P. S.: Analysis of histocompatibility data from 1000 kidney transplants. Abstract No. 118, 3rd Int. Congr. of the Transplant. Soc. 1970, The Hague, Netherlands.

55. THULSTRUP, H. : The Influence of Leukocyte and Thrombocyte Incompatibility on Non-Haemolytic Transfusion Reactions. I. A. retrospective study.
Vox Sang. 21, 233 (1971)

56. VREDEVOE, D. L.; TERASAKI, P. I.; MICKEY, M. R. ; GLASSOCK, R.; MERILL, J. P.; MURRAY, J.E.: Serotyping of human lymphocyte antigens. III. Long term kidney homograft survivors.
Histocomp. Testing 1965, 25 Munksgaard, Copenhagen

57. WALFORD, R.L.; CARTER, P. K.; ANDERSON, R.E.: Leucocyte antibodies following skin homografting in the human.
Transplant. Bull. 29, 16 (1962)

58. WALFORD, R. L.; SHANBROM, E.; TROUP, G. M.;
ZELLER, E.; ACKERMANN, B.: Lymphocyte grouping with
defined antisera.
Histocomp. Testing 1967, 221 Munksgaard, Copenhagen
59. WALFORD, R. L. : The isoantigenic systems of human leukocytes:
medical and biological significance.
Ser. Haematol. Vol. II, 2 (1969) Munksgaard, Copenhagen
60. WEERDT, C. M. VAN DER: Platelet antigens and iso-immunization.
Thesis. 1965, Drukkerij Aemstelstad, Amsterdam.

I. DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas möchte ich
Herrn Professor Dr. Ch. M u e l l e r - E c k h a r d t
danken.

Außerdem gilt mein Dank für die Anleitung Herrn Dr. D.
H e i n r i c h.

K. LEBENS LAUF

Am 29. Dezember 1948 wurde ich als erstes Kind des Landwirts Karl Heinz Grieb und seiner Ehefrau Irmgard Grieb geb. Weil in Griedel/Hess. geboren.

Ostern 1955 wurde ich in Griedel eingeschult. Ab Ostern 1959 besuchte ich das Weidig-Gymnasium in Butzbach/Hess. an dem ich am 20. Juni 1967 meine Schulausbildung mit der Reifeprüfung abschloß.

Im Herbst 1967 begann ich mit dem Medizinstudium an der Johann Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt/Main. Am 1. Oktober 1968 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 21. März 1970 die Ärztliche Vorprüfung. Ab dem Sommersemester 1970 führte ich mein Studium an der Justus Liebig-Universität in Gießen fort.

Die Ärztliche Prüfung habe ich vor dem Prüfungsausschuß des Fachbereichs Humanmedizin der Justus Liebig-Universität in Gießen am 9. Juli 1973 erfolgreich abgeschlossen.

Am 25. Juni 1973 heiratete ich in Gießen Frä. Angela Schwarzbach.

